

Trägerarm markierte 6-Aminopurinderivate als potentielle Adenosin-A_{2A} Rezeptor- liganden für die Positronen-Emissions- Tomographie

Inaugural Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von

Marc Breidenbach

aus Mayen

Druckerei der Forschungszentrum Jülich GmbH

2003

Berichterstatter:

Prof. Dr. H.H. Coenen

Prof. Dr. A.G. Griesbeck

Tag der mündlichen Prüfung:

Donnerstag 04.12.2003

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2000 bis Oktober 2003 am Institut für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. H.H. Coenen (Abteilung Nuklearchemie der Universität zu Köln) durchgeführt.

No-carrier-added labelled 6-aminopurine derivatives as potential adenosine A_{2A}-receptorligands for positron-emission-tomography

Alteration in the density of CNS adenosine receptors (ARs) is thought to contribute to some neurodegenerative disorders like Parkinsons disease. This creates a demand for PET-tracers, suitable for measurement of the density of A_{2A}ARs in human brain *in vivo*. Therefore A_{2A}AR selective and high affine ligands, n.c.a. labelled with positron emitting nuclides, are needed that bind specifically *in vivo* to the receptor and thus could be used for the imaging of A_{2A}AR-rich brain regions. Because of radiochemical reasons or their low water solubility, high lipophilicity and tendency for unspecific binding, none of the known A_{2A}-selective and high affine ligands is suitable for *in vivo* brain imaging with PET. The aim of this work was to synthesize and evaluate new potential PET-tracers based on one of the lead-structures of known A_{2A}AR antagonists, the 6-aminopurine.

A series of N², C8 and N9 differentially substituted 2,6-diaminopurines has been synthesized following two synthetic pathways that have been developed. For evaluation of the substances their affinities towards the *high-affinity* AR subtypes A₁ and A_{2A} were specified in *in vitro* competition experiments using pig brain membrane preparations. In addition, their water solubility was determined by a HPLC/UV-method and their logP-values calculated. Structure-activity-relationships were analyzed revealing that N² hydroxy-phenylethyl and C8 2-furyl substituted 2,6-diaminopurines exhibit affinities of about 20 nM and selectivities up to 1000-fold towards A_{2A}AR if N9 is alkylated.

By N9 fluorethylation or methylation as well as electrophilic iodination of the N² hydroxy-phenylethyl substituent it is possible to obtain ligands with suitable affinity and selectivity that potentially lend themselves for *in vivo* applications. No-carrier-added labelling of these substances with either fluorine-18, carbon-11 or iodine-131 (used as a substitute for iodine-120,124) was optimized and radiochromatographic conditions for isolation were elaborated. N.c.a. radiolabelling with [¹⁸F]fluoride and electrophilic iodine-131 was performed with good radiochemical yields of about 70 %, methylation with [¹¹C]methyl iodide supplied about 60 %.

Evaluation of the radioligands by *in vitro* autoradiography with rat brain slices was performed to measure unspecific binding and uptake in target tissue, but neither radioligand showed the expected selective binding to the A_{2A}AR rich striatal region.

Kurzzusammenfassung

Eine Veränderung der Adenosinrezeptordichte im ZNS wird als eine Ursache neurodegenerativer Erkrankungen diskutiert. Es besteht daher Interesse an PET-Radiotracer, mit denen es möglich ist, die Dichte des A_{2A} -Adenosinrezeptor ($A_{2A}AR$) Subtyps im Gehirn von Patienten *in vivo* zu bestimmen. Dazu werden mit Positronenstrahlern trägerarm markierte, selektive und hochaffine Liganden benötigt, die in der Lage sind, *in vivo* spezifisch an den Rezeptor zu binden und so Hirnregionen hoher $A_{2A}AR$ -Dichte darzustellen. Von den bekannten $A_{2A}AR$ selektiven und hochaffinen Verbindungen ist entweder aus radiochemischen oder pharmakologischen Gesichtspunkten keine für eine Anwendung in der PET geeignet. Ziel dieser Arbeit war es, auf der Basis einer Leitstruktur bekannter $A_{2A}AR$ Antagonisten, dem 6-Aminopurin, neue potentielle PET-Radiotracer zu synthetisieren und hinsichtlich einer Anwendung zu evaluieren.

Zwei Konzepte zur Synthese von in den Positionen 2, 8 und 9 unterschiedlich substituierten 2,6-Diaminopurinen wurden entwickelt und zur Darstellung einer Serie von Derivaten angewendet. Zur Evaluierung der Substanzen wurden ihre *in vitro* Affinitäten zu den beiden „high-affinity“ AR-Subtypen A_1 und A_{2A} durch Radioligand-Verdrängungs-Studien an Membranpräparationen aus Schweinehirnen sowie ihre Wasserlöslichkeiten experimentell bestimmt. Außerdem wurden ihre logP-Werte berechnet. Die gewonnenen Struktur-Aktivitäts-Beziehungen zeigten, dass N^2 4-Methoxyphenyl-ethyl- und C8 2-Furyl-substituierte 2,6-Diaminopurinderivate Affinitäten von etwa 20 nM und bis zu 1000fache Selektivitäten gegenüber dem $A_{2A}AR$ aufweisen, wenn N9 alkyliert ist.

Durch 2-Fluorethylierung oder Methylierung von N9 sowie elektrophiler Iodierung des 4-Hydroxyphenyl-ethyl- Substituenten an N^2 konnten so affine und selektive Liganden synthetisiert werden, die sich für eine *in vivo* Anwendung als Radiotracer potentiell eignen. Die trägerarme Markierung dieser Substanzen mit den Positronenstrahlern Fluor-18, Kohlenstoff-11 oder dem β^- -Strahler Iod-131 (als Substitut für die Iodisotope Iod-120,124) wurde optimiert und radiochromatographische Trennmethode zu ihrer Isolierung ausgearbeitet. Die nukleophile ^{18}F -Fluorierung und elektrophile Radioiodierung ergaben unter optimalen Bedingungen radiochemische Ausbeuten von über 70 %, die ^{11}C -Methylierung knapp über 60 %.

Die Evaluierung der Radioliganden durch autoradiographische *in vitro* Studien an Rattenhirnschnitten zur Bestimmung der Anreicherung der Liganden im Zielgewebe sowie des unspezifischen Bindungsanteils, ergab keine signifikante Aufnahme der Liganden in das Striatum, einer Hirnregion mit hoher $A_{2A}AR$ -Dichte.

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1.1 Das Radiotracerprinzip	1
1.2 Grundlagen der Positronen-Emissions-Tomographie	2
1.3 Radiotracer für die Positronen-Emissions-Tomographie	4
1.4 Grundlegende Aspekte der Darstellung von Radiotracern	8
1.5 Methoden zur Markierung mit ^{18}F , ^{11}C und Radioiod	11
1.5.1 ^{18}F -Fluorierungsmethoden	11
1.5.2 ^{11}C -Markierungsmethoden	15
1.5.3 Radioiodierungsmethoden	17
1.6 Bindungsstudien mit Radioliganden	19
1.6.1 Grundlagen	19
1.6.2 Sättigungsexperimente	21
1.6.3 Verdrängungsstudien	22
1.7 Das Adenosinrezeptorsystem	24
1.8 Adenosinrezeptorliganden für die Positronen-Emissions-Tomographie	26
1.8.1 Radioliganden für den A_1 -Adenosinrezeptor	28
1.8.2 Radioliganden für den $\text{A}_{2\text{A}}$ -Adenosinrezeptor	29
Aufgabenstellung	32
Ergebnisse und Diskussion	34
3.1 Auswahl einer Leitstruktur	34
3.2 Synthese potentieller Liganden	37
3.3 Evaluierung der neuen Verbindungen	44
3.4 Markierungssynthesen	54
3.4.1 Radioiodierung	55
3.4.2 ^{11}C -Methylierung	56
3.4.3 Radiofluorierung	57
3.4 Autoradiographische <i>in vitro</i> Studien am Rattenhirn	62
Experimenteller Teil	66
4.1 Generelles	66
4.2 Synthese der Standards und Vorläufer	67
4.3 Bestimmung der Löslichkeiten	87

4.4	Trägerarme Radiosynthesen	89
4.4.1	Bezug und Produktion der verwendeten Radionuklide	89
4.4.2	Markierungen mit Iod-131	89
4.4.3	Markierungen mit Fluor-18	90
4.4.4	Markierungen mit Kohlenstoff-11	90
4.5	Radioanalytik	92
4.5.1	Radiodünnschichtchromatographie	92
4.5.2	Radio-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	92
4.5.3	Bestimmung der spezifischen Aktivitäten	93
4.6	Rezeptorbindungsstudien	95
4.7	Autoradiographische Untersuchungen	96
	Zusammenfassung	98
	Literatur	102

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Das Radiotracerprinzip

Das Prinzip Radioisotope als Indikatoren für chemische Vorgänge zu verwenden, hat seine Ursprünge in den Laboren von Ernest Rutherford am Institut für Physik der Universität von Manchester. Der Begriff der Isotopie war noch nicht bekannt, so dass die radioaktiven Folgeprodukte von bekannten Radioelementen zunächst Namen wie Uran-X₁, Thorium-B oder Radium-A erhielten, die ihre chemische Zuordnung nicht erkennen ließen. Ein langlebiges Zerfallsprodukt des Radiums, das Radium-D, fiel bei der Aufarbeitung der Pechblende in größeren Mengen zusammen mit Blei an. Der in Ungarn geborene Chemiker Georg de Hevesy erhielt daher 1911 von Rutherford den Auftrag, Radium-D von diesem abzutrennen. Trotz fast zwei Jahren intensiver Arbeit gelang de Hevesy die Abtrennung nicht. Mittlerweile in Wien am Institut für Radiumforschung, entschloss er sich daher 1913, zusammen mit seinem Kollegen Fritz Paneth, Radium-D als Indikator für Blei zu verwenden und bestimmte so die Löslichkeitsprodukte verschiedener, schwer löslicher Bleisalze [1]. 1923 übertrug de Hevesy das Tracerprinzip, des mittlerweile als Bleiisotop Pb-210 ($t_{1/2} = 22,3$ Jahre; α , β^- -Strahler) identifizierten Radium-D, erstmals auf biochemische Vorgänge indem er es zur Untersuchung von Stoffwechselvorgänge in Pflanzen nutzte [2]. Damit schuf er die Grundlage der Radiotracermethode in den Lebenswissenschaften. Für ihre Arbeiten erhielten Fritz Paneth und Georg de Hevesy 1943 gemeinsam den Nobelpreis für Chemie.

Als Radiotracer werden heute radioaktive Atome oder radioaktiv markierte Verbindungen bezeichnet, die aufgrund des identischen chemischen und physiologischen Verhaltens isotoper Radionuklide dazu genutzt werden, einen chemischen oder biochemischen Prozess über die radioaktive Strahlung zu verfolgen. Nahezu alle Teilbereiche der Lebenswissenschaften nutzen heute dieses Radiotracerprinzip als Grundlage ver-

schiedenster analytischer und diagnostischer Verfahren. Bekannte Beispiele sind die Aufklärung komplexer Reaktionsabläufe in der organischen Chemie [3] oder die Bestimmung niedriger Konzentrationen von Biomolekülen mit Radioimmunoassays und den daraus abgeleiteten Verfahren [4].

Die sensitive Messbarkeit radioaktiver Strahlung und ihre geringe Wechselwirkung mit organischem Gewebe ermöglichen es, den Aufenthaltsort geeignet markierter Verbindungen *in vivo* zu verfolgen. Wegen der sehr niedrigen Nachweisgrenze radioaktiver Strahlung reichen dazu bereits geringe Stoffmengen ($< \text{nmol}$) an kurzlebigen Radiotracern aus, so dass Abläufe untersucht werden können, die in extrem geringen Konzentrationen ablaufen, ohne deren physiologische Gleichgewichte zu beeinflussen. Dies macht man sich z. B. bei der Erforschung von Immunreaktionen, der Biochemie neuronaler und hormoneller Transmitter, der Messung von Rezeptordichten und der Bestimmung des Transportes von Glucose, Fett- und Aminosäuren zunutze. Dabei nimmt die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) eine besondere Stellung ein, da mit ihr die Radioaktivität in hoher räumlicher Auflösung quantifiziert werden kann und so exakte Messungen von Stoffwechselvorgängen *in vivo* ermöglicht werden [4].

1.2 Grundlagen der Positronen-Emissions-Tomographie

Für die PET werden Radiotracer verwendet, die mit kurzlebigen, neutronenarmen Positronenstrahlern (β^+ -Strahler) markiert sind. Diese zerfallen durch Konversion eines Protons in ein Neutron unter gleichzeitiger Emission eines Positrons (β^+) und eines Neutrinos (ν). Die Wechselwirkung des Neutrinos mit Materie ist nur sehr gering, das Positron hingegen verliert seine hohe kinetische Energie (β_{max} der wichtigsten PET-Nuklide s. Tab. 1.3.1) entlang des „Bremsweges“ von einigen Millimetern. Nach Erreichen einer Mindestgeschwindigkeit bildet sich zunächst intermediär aus dem Positron und einem Elektron ein Positronium. Dieses Positronium existiert entweder im häufigen Singulettzustand (antiparalleler Spin, Drehimpuls Null, mittlere Lebensdauer: $1,25 \cdot 10^{-10} \text{ s}$) oder seltener, in Wasser und Gewebe etwa zu 0,4 %, im Triplettzustand (paralleler Spin, Drehimpuls $\hbar = h/2\pi$, mittlere Lebensdauer: $1,39 \cdot 10^{-7} \text{ s}$) [5]. Da Positron und Elektron Teilchen und komplementäres Antiteilchen darstellen, rekombinieren sie zu elektromag-

netischer Strahlung. Wegen der Drehimpuls-, Paritäts- und Impulserhaltung entstehen aus dem Singulettzustand zwei, aus dem Triplettzustand drei γ -Quanten (Anihilationsstrahlung). Die Gesamtenergie dieser γ -Quanten ist äquivalent der Summe der Massen von Elektron und Positron und entspricht demnach 1,022 MeV. Die beiden aus dem Zerfall des Singulett-Positroniums entstammenden γ -Quanten haben jeweils eine Energie von 511 keV und werden unter einem Winkel von 180° emittiert [5].

Mit Kristalldetektoren (aus Bismutgermanat (BGO) oder Lutetiumsilicat (LSO)) kann man die beiden aus einem Zerfall stammenden 511 keV γ -Quanten außerhalb des Körpers registrieren. Die Detektoren sind so verschaltet, dass ein Zerfallsereignis nur dann erfasst wird, wenn die beiden γ -Quanten innerhalb einer Auflösungszeit von wenigen Nanosekunden gleichzeitig von zwei gegenüberliegenden Detektoren registriert werden (Koinzidenzmessung). Da die Zählkreiszeit aufgrund des 180° Winkels beider ausgesandten γ -Quanten tiefenunabhängig ist, können Streu- und Absorptionsverluste durch eine von der eigentlichen PET-Aufnahme unabhängig durchgeführte Transmissions-Messung exakt bestimmt und korrigiert werden, wodurch eine Quantifizierung der Aktivität und damit des Tracers im Gewebe möglich wird. Ringförmig um den Patienten angeordnete Detektorenpaare ermöglichen es, in einer Schnittebene (tomographischen Schicht) die Konzentrationen markierter Verbindungen oder ihrer Metabolite im pico- bis nanomolaren Bereich quantitativ zu erfassen. Durch computergestützte Bildrekonstruktionsverfahren sind, durch Aufnahme von mehreren transversalen Schnittebenen, so dreidimensionale Bilder von Arealen hoher Traceranreicherung mit einer Ortsauflösung von 3-5 mm darstellbar. Regional ablaufende physiologische Prozesse können durch dynamische Messungen über einen längeren Zeitraum mit Hilfe biomathematischer Modelle *in vivo* erfasst und quantifiziert werden [6, 7, 8, 9] wodurch pharmakokinetische Aussagen über Transport- oder Umsatzraten sowie Konzentrationen möglich werden. Dies ist mit anderen, bildgebenden Verfahren der Medizin, wie der Röntgen-Computer-Tomographie (CT), die morphologische Strukturen abbilden, indem die Transmission von Strahlung durch den Körper gemessen wird, nicht oder wie bei der funktionellen Magnet-Resonanz-Tomographie (fMRT) nur sehr eingeschränkt möglich.

1.3 Radiotracer für die Positronen-Emissions-Tomographie

Zur Messung regional ablaufender, biochemischer Stoffwechselraten benötigt die PET mit Positronenemittern markierte, endogene oder exogene Substrate, die selektiv an den zu untersuchenden Prozessen teilnehmen. Die Entwicklung eines PET-Tracers orientiert sich zunächst an zu untersuchenden physiologischen Prozessen wie Kohlenhydrat- oder Aminosäurestoffwechsel, Enzymaktivität, Rezeptor-Ligand-Interaktion, biochemischer Kommunikation (Neurotransmission und Hormone) oder Immunreaktionen [10, 11]. Die Tracerentwicklung umfasst dann typischerweise die Auswahl des geeigneten Nuklids, die schnelle, effiziente Markierungssynthese, eine Qualitätskontrolle, eine *in vitro* und *in vivo* Evaluierung der physikochemischen, biologischen und pharmakologischen Eigenschaften inklusive Metabolitenstudien, der Toxikologie und Dosimetrie, die Automatisierung der Synthese („up-scaling“ in den GBq-Bereich), eine Quantifizierung der Pharmakokinetik und letztlich die klinische Evaluierung.

Zur authentischen Markierung von Pharmaka oder endogenen Biomolekülen (z. B. Glucose, Aminosäuren, Fettsäuren) sind nur die kurzlebigen, so genannten „organischen“ PET-Nuklide ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N und ^{30}P geeignet (Tabelle 1.3.1). Aufgrund ihrer sehr kurzen Halbwertszeiten von 2 - 20 Minuten sind deren synthetischen und pharmakokinetischen Anwendungsmöglichkeiten jedoch stark eingeschränkt. Lediglich die etwas günstigere Halbwertszeit von Kohlenstoff-11 ($t_{1/2} = 20,4 \text{ min}$) ermöglicht über die Synthese sekundärer Markierungsvorläufer die Durchführung komplexerer Radiosynthesen zur Darstellung zahlreicher ^{11}C -markierter Substanzen, von denen einige routinemäßig in der nuklearmedizinischen Diagnostik eingesetzt werden [12].

Für zeitlich anspruchsvollere Aufbausynthesen und ausgedehntere pharmakologische PET-Studien werden bevorzugt die längerlebigen Analogtracer ^{18}F , $^{75,76}\text{Br}$, $^{120,124}\text{I}$ und ^{73}Se eingesetzt. Die Markierungen endogener Substanzen mit Radionukliden dieses Typs basieren auf sterischen und chemischen Analogien der Radioisotope zu den substituierten funktionellen Gruppen. ^{76}Br und ^{124}I stellen z. B. Strukturanaloga für Methylgruppen dar [13] und ^{73}Se wird aufgrund der ähnlichen sterischen und chemischen Eigenschaften wie sein Homologes Schwefel zum Beispiel zur Markierung von Methionin eingesetzt [14]. Fluor besitzt mit einem van-der-Waals-Radius von 1,35 Å einen dem Wasserstoff (1,20 Å) annähernd gleich großen Atomradius. Hieraus ergibt sich die sterische Analogie von Fluor und Wasserstoff, auf deren Basis die Entwicklung des weitaus größ-

ten Teils aller ^{18}F -markierten Verbindungen beruht. So wird zum Beispiel 2- ^{18}F -Fluortyrosin, ein künstliches Tyrosinanalogen, metabolisch akzeptiert und kann zur Quantifizierung der regionalen Proteinsyntheserate im Gehirn genutzt werden [15].

Tabelle 1.3.1: Die wichtigsten PET-Nuklide und deren nukleare Daten [16, 17, 18]

Nuklid	Halbwertszeit	Zerfallsart (%)	$E_{\beta^+, \max}$ [keV]
„organische“			
^{11}C	20,4 min	β^+ (99,8); EC (0,2)	960
^{13}N	9,96 min	β^+ (100)	1190
^{15}O	2,03 min	β^+ (99,9); EC (0,1)	1720
^{30}P	2,5 min	β^+ (99,8); EC (0,2)	3250
„analoge“			
^{18}F	109,6 min	β^+ (97); EC (3)	635
^{75}Br	98 min	β^+ (75,5); EC (24,5)	1740
^{76}Br	16,1 h	β^+ (57); EC (43)	3900
^{73}Se	7,1 h	β^+ (65); EC (35)	1320
^{120}I	1,35 h	β^+ (64); EC (36)	4100
^{124}I	4,15 d	β^+ (25); EC (75)	2140
metallische			
^{38}K	7,6 min	β^+ (100)	2680
^{62}Cu	9,7 min	β^+ (98); EC (2)	2930
^{64}Cu	12,7 h	β^+ (18); β^- (37); EC (45)	655
^{68}Ga	68,3 min	β^+ (90); EC (10)	1900
^{82}Rb	1,3 min	β^+ (96); EC (4)	3350
^{86}Y	14,7 h	β^+ (34); EC (66)	1300
$^{94\text{m}}\text{Tc}$	52 min	β^+ (72); EC (28)	2470

Ein weiteres Beispiel für eine F-für-H-Analogie ist 2- ^{18}F -Fluordeoxyglucose (FDG), das gegenwärtig meistgenutzte PET-Radiopharmakon. FDG wird als Glucoseanaloge über Carrier-Proteine aktiv in Zellen eingeschleust und dient als Substrat für die Hexokinase. Wegen der strukturellen Analogie zur 2-Deoxyglucose wird FDG jedoch nicht weiter metabolisiert und verbleibt als 2- ^{18}F -Fluordeoxyglucose-6-Phosphat in der Zelle. Dieses als „metabolic trapping“ bezeichnete Verhalten, erlaubt eine Quantifizierung des Glukoseverbrauchs auf der Basis eines Drei-Kompartiment-Modells [19] zum Beispiel zur Diagnose von Tumoren, die einen erhöhten Glukoseverbrauch aufweisen [20]. Eine mögliche Veränderung des physiologischen Verhaltens von analog markierten

Tracern muss jedoch im Einzelfall überprüft werden, wobei derartige Effekte, wie im Fall von FDG, durchaus von Vorteil sein können.

Fluor-18 ist aufgrund seiner günstigen physikalischen und chemischen Eigenschaften ein ideales PET-Nuklid. Die Produktion ist in hohen Ausbeuten auch an kleinen Zyklotronen möglich, was Fluor-18 relativ preiswert macht. Die Halbwertszeit von 109,7 Minuten ermöglicht sowohl mehrstufige Synthesen als auch die Studien langsamerer Pharmakokinetiken. Außerdem kann dadurch nach einem so genannten Satellitenkonzept die Versorgung von Kliniken ohne eigenes Zyklotron mit Radiopharmaka sichergestellt werden. Fluor-18 hat neben Kupfer-64 von allen PET-Nukliden die niedrigste maximale Positronenenergie (635 keV) was eine geringe Strahlenexposition für den Patienten bei einer höchstmöglichen Auflösung bedingt.

Die metallischen Positronenstrahler stellen neben den organischen und analogen die dritte Klasse der PET-Nuklide dar. Im Gegensatz zu den „organischen“ und „analogen“ sind einige der metallischen PET-Nuklide (z. B. ^{82}Rb , ^{62}Cu und ^{98}Ga) Generator-nuklide, weshalb sie auch Arbeitsgruppen ohne eigenes Zyklotron zur Verfügung stehen [21]. Sie werden *in vivo* in komplexierter Form oder als freie Ionen eingesetzt [12]. Die Möglichkeit der Quantifizierung von PET-Tracern macht man sich bei der Aufklärung der Pharmakokinetiken von ^{90}Y -markierten Therapeutika oder $^{99\text{m}}\text{Tc}$ markierten SPET-Radiotracern durch den Austausch dieser Nuklide mit den PET-Nukliden Y-86 oder Tc-94m zunutze [13].

Die für die PET benötigten Radioisotope sind naturgemäß neutronenarme Atome und werden daher im Allgemeinen durch den Beschuss stabiler Atome mit kleinen geladenen Teilchen wie Protonen, Deuteronen oder Heliumkernen in Teilchenbeschleuniger erzeugt. Voraussetzung zur Produktion von Radionukliden ist die Kenntnis ihrer nuklearen Daten und der jeweiligen Anregungsfunktionen. Die Art der verwendeten Kernreaktion und des Targetmaterials entscheidet hierbei häufig über die chemische Form, die erreichbare spezifische Aktivität und die absolut produzierbare Radioaktivitätsmenge. Von den mehr als zwanzig bekannten Produktionsmethoden von Fluor-18 sind die vier wichtigsten in Tabelle 1.3.2 aufgeführt.

Tabelle 1.3.2: Die wichtigsten Kernreaktionen zur Herstellung von Fluor-18 [22, 23, 24]

Reaktion	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	$^{16}\text{O}(3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$	$^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$
Targetmaterial	H_2^{18}O	H_2O	$\text{Ne}/0,2\ \% \text{ F}_2$	$^{18}\text{O}_2$
Teilchenenergie [MeV]	$16 \rightarrow 0$	$36 \rightarrow 0$	$11 \rightarrow 0$	$10 \rightarrow 0$
chem. Form des ^{18}F	$^{18}\text{F}_{\text{aq}}^-$	$^{18}\text{F}_{\text{aq}}^-$	$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$	$[^{18}\text{F}]\text{F}_2$
Targetausbeute [mCi/ μAh]	60	7	10-12	~ 10
spez. Aktivität [GBq/ μmol]	≤ 3700	≤ 3700	0,037-0,37	0,037-1,85

Man erkennt, dass Fluor-18 in hohen spezifischen Ausbeuten durch Bestrahlung eines mit Sauerstoff-18 angereicherten Wassertargets erhalten werden kann, wobei hier die $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ -Kernreaktion verwendet wird, da geringere Protonenergien nötig sind und gleichzeitig höhere Targetausbeuten erreicht werden [25]. Für elektrophile Synthesen benötigtes $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ kann mit Hilfe von Ne- oder $^{18}\text{O}_2$ -Gastargets nur in geträgerter Form durch Zusatz von Fluor produziert werden, weshalb die erreichbaren spezifischen Aktivitäten geringer sind. Die gängige Methode ist hier die $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$ -Kernreaktion [26].

Neben Fluor-18 sind Kohlenstoff-11, Stickstoff-13 und Sauerstoff-15 die am häufigsten verwendeten Radioisotope in der PET. Die bei weitem wichtigste Produktionsmethode zur Darstellung von Kohlenstoff-11 ist die $^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$ -Kernreaktion mit Stickstoffgastargets. Diese Reaktion ist an kleinen Zyklotronen möglich (Energiebereich 7-15 MeV Protonen) und ergibt hohe Ausbeuten [27]. Durch den Zusatz von geringen Mengen Sauerstoff zum Targetgas lässt sich ^{11}C ausschließlich in Form von $[^{11}\text{C}]\text{Kohlendioxid}$, durch Zugabe von Wasserstoff als $[^{11}\text{C}]\text{Methan}$ erhalten. Die wichtigsten Reaktionen zur Routineproduktion von Stickstoff-13 ist die $^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$ -Kernreaktion an natürlichem Wasser [28] und von Sauerstoff-15 die $^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$ -Kernreaktion an natürlichem Stickstoff [29].

Für die Produktion von ^{124}I hat sich die Kernreaktion $^{124}\text{Te}(\text{p},\text{n})^{124}\text{I}$ an angereicherter Tellur (in Form von TeO_2) als vorteilhaft erwiesen. Die Bildung langlebiger radio-nuklidischer Verunreinigungen wie $^{125,126}\text{I}$ ist bei alternativen Produktionsmethoden wie

z. B. den Kernreaktionen an natürlichem Antimon ($^{nat}\text{Sb}(^3\text{He}, xn)^{124}\text{I}$ oder $^{nat}\text{Sb}(\alpha, xn)^{124}\text{I}$), über die $^{124}\text{Te}(d, 2n)^{124}\text{I}$ oder den Reaktionen mit anderen Tellurisotopen ($^{126}\text{Te}(p, 3n)^{124}\text{I}$) deutlich größer. Außerdem ist die (p,n)-Reaktion an kleinen Zyklotronen möglich, da der optimale Energiebereich E_p 13 → 9 MeV beträgt. Eine komplette Übersicht findet sich bei Qaim et al. [30, 31]. Die Gewinnung des Radioiods aus dem Target erfolgt durch trockene Destillation. Dabei wird das Radioiod durch einen Gasstrom (Luft oder O_2) aus dem auf etwa 750 °C aufgeheizten Target in eine mit Natronlauge gefüllte Vorlage geleitet.

Zur Produktion von ^{120}I wird entweder die $^{122}\text{Te}(p, 3n)^{120}\text{I}$ - oder die $^{120}\text{Te}(p, n)^{120}\text{I}$ -Kernreaktion verwendet. In beiden Fällen ist der Einsatz angereicherter Targetmaterialien notwendig. Bei Verwendung von ^{122}Te muss die Bestrahlung an Beschleunigern mit Energien von mehr als 30 MeV durchgeführt werden und es entstehen eine Reihe von Nebenprodukten wie z. B. 25 % ^{120m}I das mit einer Halbwertszeit von 53 Minuten und einem β^+ -Anteil von etwa 50 % zerfällt, wodurch genaue PET-Messungen erschwert werden. Besser geeignet ist die Reaktion an ^{120}Te , da hier mit Protonenenergien unterhalb von 15 MeV auch an kleineren Beschleunigern produziert werden kann und die Verunreinigung mit anderen Iodisotopen geringer ist [31, 32]. Die Kosten für hochangereicherte ^{120}Te -Targets sind jedoch sehr hoch. Die Abtrennung des Radioiods erfolgt ebenfalls durch trockene Destillation.

1.4 Grundlegende Aspekte der Darstellung von Radiotracern

Der größte Unterschied beim Arbeiten mit kurzlebigen Radionukliden im Vergleich zur makroskopischen Chemie, besteht in der zu handhabenden Stoffmenge. Die Angabe der Stoffmenge erfolgt in der Nuklearchemie indirekt über die Anzahl der Zerfälle pro Zeiteinheit. So entspricht die Aktivität [$\text{Bq} = 1/\text{s}$] von 55 GBq (1,5 Ci; durchschnittliche Produktionsmenge an einem Babyzyklotron) des Positronenstrahlers Fluor-18 etwa $8,8 \cdot 10^{-10}$ mol Fluor; wobei jedoch zu beachten ist, dass strahlenschutzbedingte praktikable Umgangsmengen zur Synthese oder Applikation von Radiopharmaka geringer sind und das Fluor-18 nicht isotenrein herstellbar ist, sondern immer mit stabilem Fluor-19 verunreinigt ist.

An Stelle der Aktivität ist daher die auf die Masse bezogene Aktivität, die spezifischen Aktivität A_S , entscheidend [33].

$$A_S = \frac{A}{m} \left[\frac{\text{Bq}}{\text{g}} \right]$$

Die maximale molare Aktivität $A_{S,\text{max}}$ lässt sich aus der Definition für den radioaktiven Zerfall berechnen. Die Aktivität A ergibt sich ausgehend vom Zerfallsgesetz. Mit der Zerfallskonstanten λ [s^{-1}] und der Anzahl der Teilchen N gilt für den radioaktiven Zerfall:

$$A = -\frac{dN}{dt} = N \cdot \lambda \quad [\text{Bq}]$$

Mit $n = \frac{N}{N_A}$ folgt:

$$\frac{A}{n} = \lambda \cdot N_A \left[\frac{\text{Bq}}{\text{mol}} \right]$$

Die theoretisch maximale molare Radioaktivität $A_{S,\text{max}}$ ergibt sich entsprechend zu:

$$A_{S,\text{max}} = \lambda \cdot N_A \left[\frac{\text{Bq}}{\text{mol}} \right]$$

Die theoretische maximale molare Aktivität der beiden am häufigsten benutzten Positronenstrahler ^{18}F und ^{11}C betragen $6,3 \cdot 10^{19}$ Bq/mol bzw. $3,4 \cdot 10^{20}$ Bq/mol. In der Praxis werden jedoch infolge der „Verdünnung“ mit natürlich vorkommenden stabilen Isotopen dieser Elemente nur um das 10^3 - 10^5 -fach geringere molare Aktivitäten erreicht. Durch diese „Verdünnung“ wird die Stoffmenge mit der gearbeitet wird zwar größer, jedoch handelt es sich immer noch um Größenordnungen im nano- bis picomolaren Bereich.

Das Vorhandensein von Träger, das heißt von Beimengungen stabiler Isotope des verwendeten Radionuklids, verringert somit die spezifische Aktivität. Oft werden PET-Aufnahmen zur Untersuchung von Biomolekülen durchgeführt, die in der Zielregion in extrem geringen Konzentrationen vorliegen, wie z.B. Enzyme, Wiederaufnahmeproteine („reuptake sites“) oder Rezeptoren [34]. Für solche Experimente sind entsprechende

Radioliganden mit hoher spezifischer Aktivität notwendig, um biochemische bzw. pharmakologische Gleichgewichte nicht zu beeinträchtigen.

Grundsätzlich werden bei Markierungen folgende Fälle unterschieden:

- trägerfreie oder carrier-free (c.f.) Synthesen
- trägerarme oder no-carrier-added (n.c.a.) Synthesen
- geträgerte oder carrier-added (c.a.) Synthesen.

Trägerfreie Systeme stellen einen Idealfall dar, der im Allgemeinen nur bei Verwendung künstlich hergestellter Radioisotope von „Radioelementen“ erreicht wird. Meist arbeitet man mit trägerarmen Systemen, das heißt ohne den gewollten Zusatz isotoper Träger. Die Kontamination mit stabilen Isotopen lässt sich jedoch selbst bei sorgfältigster Arbeitsweise nicht vermeiden, die, abhängig von der natürlichen Häufigkeit des Elements, aus der Atmosphäre, durch Kontakt mit Chemikalien oder Reaktionsgefäßen zustande kommt. Demzufolge können die theoretisch möglichen, maximalen spezifischen Aktivitäten unter diesen Bedingungen nicht erreicht werden.

Für Markierungssynthesen bedeutet das Arbeiten mit Konzentrationen im subnanomolaren Bereich, dass sich der Reaktionsverlauf aufgrund des Ungleichgewichts der Reaktionspartner deutlich von denen äquimolarer Reaktionen unterscheiden kann. Die Synthesen verlaufen unter n.c.a. Bedingungen im Allgemeinen entsprechend einer Kinetik „pseudo erster Ordnung“, da die Konzentration des Markierungsvorläufers gegenüber dem trägerarmen Nuklid als konstant angesehen werden kann. Die auf die Anfangsaktivität zerfallskorrigierte Ausbeute, die *radiochemische Ausbeute* (RCA), nimmt somit mit steigender Reaktionszeit einen exponentiellen Verlauf gegen einen Sättigungswert an. Dies bedeutet, dass ohne auftretende Nebenreaktionen theoretisch 100 % Reaktionsausbeute erzielt werden können. Unter Berücksichtigung des radioaktiven Zerfalls des Produktes wird die Reaktion jedoch günstigerweise früher abgebrochen.

Trägerarme Radiotracersynthesen erfordern gegenüber der „klassischen“ makroskopischen Chemie weitere besondere Bedingungen auf die zu achten ist. Da bereits geringste Verunreinigungen in höherer Konzentration vorliegen können als das Radionuklid, ist eine hohe Reinheit der Reagenzien und Lösungsmittel unbedingt notwendig. Die Einführung des Radionuklids sollte möglichst erst im letzten Reaktionsschritt erfolgen, um komplexe, mehrstufige Radiosynthesen, welche die radiochemische Aus-

beute reduzieren würden, zu vermeiden. Außerdem sollte die Synthese, Reinigung und Qualitätskontrolle des Tracers innerhalb von drei Halbwertszeiten des Nuklids beendet sein, um die Verluste durch den radioaktiven Zerfall in einem ökonomisch vernünftigen Bereich zu halten.

1.5 Methoden zur Markierung mit ^{18}F , ^{11}C und Radioiod

1.5.1 ^{18}F -Fluorierungsmethoden

Grundsätzlich stehen zur Einführung von Fluor-18 in organische Moleküle dieselben Methoden wie in der makroskopischen, organischen Chemie zur Verfügung. Trägerarme Synthesen mit Fluor-18 führen jedoch unter den meisten klassischen Bedingungen nur zu geringen chemischen Ausbeuten. Ausgehend von der Produktion des Fluor-18 stehen unterschiedliche Reagenzien und damit auch Möglichkeiten der Markierung offen.

Die wichtigste Methode zur Darstellung ^{18}F -markierter Verbindungen ist die **nukleophile Fluorierung** mit ^{18}F -Fluorid welches direkt aus dem Target ohne Trägerzusatz erhalten wird. Nur auf diesem Weg sind trägerarme Markierungsprodukte zugänglich. Für die direkte nukleophile ^{18}F -Fluorierung ergeben sich hinsichtlich der Reaktionsführung einige Besonderheiten. Das ^{18}F -Fluorid-Anion ist in wässriger Lösung stark solvatisiert ($\Delta_{\text{Hydrat}} = 506 \text{ kJ/mol}$) und damit für einen nukleophilen Angriff inaktiviert. Aufgrund seiner hohen Ladungsdichte wird es in Anwesenheit von aziden Protonen sehr leicht unter Bildung von ^{18}F -Fluorwasserstoff protoniert. Die Reaktionen werden daher vorzugsweise in dipolar aprotischen Lösungsmitteln wie Acetonitril (MeCN), Dimethylsulfoxid (DMSO), N,N-Dimethylformamid (DMF) und Dimethylacetamid (DMAA) durchgeführt, welche die Löslichkeit und die Bildung von wenig solvatisierten Fluoridionen fördern. Zusätzlich wird durch Zugabe von Phasentransferkatalysatoren (PTK) wie Tetraalkylammoniumcarbonaten und -hydroxiden oder Aminopolyethern (APE) wie z.B. Kryptofix 222[®] und nicht nukleophilen, basischen Anionen wie Carbonaten oder dem weniger basischen Oxalat-Carbonat-System als Hilfsbasen eine Anionenaktivierung und Fixierung des ^{18}F -Fluoridions erreicht [35, 36, 37]. Die erfolgreich eingesetzte Kombination des $[\text{K}(\text{2.2.2})\text{CO}_3]$ -Kryptatsystems führt wegen der Komplexbildung von Kaliumionen

durch den Aminopolyether zu einem fast unsolvatisierten Fluoridion mit hoher Reaktivität.

Zur praktischen Durchführung der Anionenaktivierung wird eine Lösung des PTK und der gewählten Base mit der wässrigen [^{18}F]Fluoridlösung versetzt und mit Hilfe von Acetonitril azeotrop getrocknet. Gleichzeitig findet die Komplexbildung des anorganischen Kations durch den Aminopolyether oder die Ionenpaarbildung zwischen dem Tetraalkylammoniumkation und dem n.c.a. [^{18}F]Fluorid statt. Adsorptionsverluste an den Reaktionsgefäßen bleiben dabei vergleichsweise klein, wenn das Löslichkeitsprodukt des entstehenden Ionenpaares nicht überschritten wird [38].

Bei der **nukleophilen ^{18}F -Fluorierung** von **Aliphaten**, die als einfache $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion angesehen wird, dienen Halogene und Sulfonsäureester wie Mesylat, Tosylat und Triflat als Abgangsgruppen [37]. So lässt sich beispielsweise 4- ^{18}F Fluorprolin als Radiotracer zur Untersuchung der Proteinsynthese diastereomerenrein in radiochemischen Ausbeuten von 36 % darstellen [39]. Eines der zur Zeit bedeutendsten Beispiele ist die Darstellung von 2- ^{18}F Fluor-2-deoxy-D-glucose (FDG) aus einem vollständig acetylierten Mannosevorläufer durch Austausch von Triflat gegen [^{18}F]Fluorid [40]. Bei der unter Konfigurationsumkehr ablaufenden Reaktion werden in der Routineproduktion radiochemische Ausbeuten von etwa 40 % erzielt.

Die häufigste Methode zur Einführung von trägerarmem Radiofluor ist die **nukleophile aromatische Fluorierung**. Zur nukleophilen aromatischen ^{18}F -Fluorierung sind generell aktivierende Substituenten mit mesomer-elektronenziehenden Eigenschaften in ortho- oder para-Stellung zur jeweiligen Abgangsgruppe notwendig (Abb. 1.5.1).

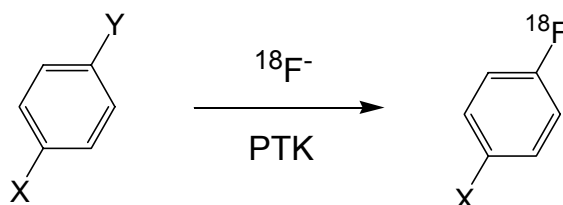


Abb. 1.5.1: Nukleophile aromatische Substitution mit [^{18}F]Fluorid an aktivierten Aromaten [aus 11]

$\text{X} = \text{NO}_2, \text{CN}, \text{CHO}, \text{RCO}, \text{COOR}, \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$

$\text{Y} = \text{F}, \text{NO}_2, \text{N}(\text{CH}_3)^{3+}$ (mit TfO^- , Tos^- , ClO_4^- , I^-), $\text{Br}, \text{Cl}, \text{I}$

$\text{PTK} = [\text{K}^+ \subset 2.2.2.]_2\text{CO}_3^{2-}$, $[\text{K}^+ \subset 2.2.2.]_2\text{C}_2\text{O}_4^{2-}/\text{CO}_3^{2-}$, R_4N^+ , Cs^+ , Rb^+

Zur Aktivierung sind besonders Nitro-, Cyano- und Carbonylgruppen mit hohen Hammett-Konstanten geeignet [41]. Als Abgangsgruppe eignen sich die Nitrogruppe, die Halogene (wobei Fluor aufgrund der Entstehung geträgerter Produkte keine Rolle spielt) und besonders die Trimethylammoniumgruppe. Sie besitzt die größte Nukleofugie unter den beschriebenen Abgangsgruppen. Als Gegenionen zur Trimethylammoniumgruppe eignen sich Iodid, Perchlorat, Tosylat und Triflat, mit in dieser Reihe steigenden radiochemischen Ausbeuten [42]. Ein Schwachpunkt der Trimethylammoniumgruppe ist die geringe radiochemische Ausbeute bei schwach aktivierenden Substituenten mit kleinen Hammett-Konstanten wie z.B. Iod und Brom ($\sigma_p = 0,26$ und $0,22$). Hierbei tritt zur nukleophilen Substitution am sp^2 -Kohlenstoff des Aromaten die Bildung von $[^{18}\text{F}]$ Fluormethan am aliphatischen Kohlenstoff in Konkurrenz, wodurch radiochemische Ausbeuten des Fluorarens von maximal 12 % resultieren [42].

Durch eine Umsetzung von substituierten Diphenyliodonium-Salzen mit $[^{18}\text{F}]$ Fluorid können auch für einen nukleophilen Angriff nicht aktivierte Aromaten radiofluoriert werden. Das Verhältnis der Produktverteilung ist hierbei stark von der Art des Substituenten R abhängig [43] (Abb. 1.5.2).

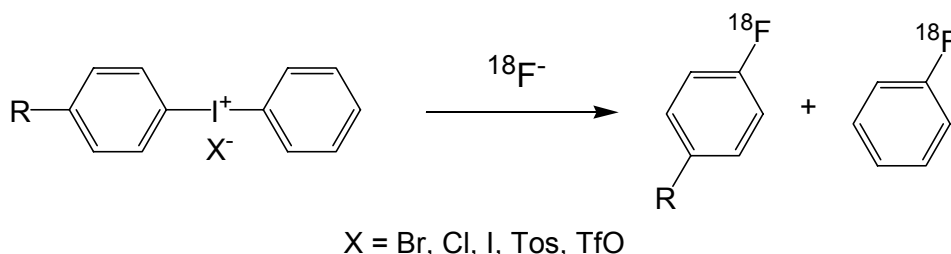


Abb. 1.5.2: Synthese von $[^{18}\text{F}]$ Fluoralkylarenen über Diphenyliodonium-Salze

Ist eine Darstellung der Iodoniumsalze nicht möglich, so bleibt zur Synthese trägerarm markierter elektronenreicher $[^{18}\text{F}]$ Fluoraromaten nur eine Mehrstufenradio-synthese. Die nukleophile Substitution muss dann zunächst durch einen aktivierenden Substituenten ermöglicht und dieser nach der ^{18}F -Fluorierung wieder abgespalten oder für weitere Syntheseschritte genutzt werden [44].

Die **elektrophile** ^{18}F -Markierung wird über die Reaktion von $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$, das direkt aus dem Target gewonnen wird, oder über die daraus synthetisierbaren Fluorierungsreagenzien Acetylhypofluorit $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{COOF}$ oder $[^{18}\text{F}]\text{XeF}_2$ [45] mit elektronenreichen Reaktanden (Alkenen, Aromaten, Carbanionen) durchgeführt. Die elektrophile Fluorie-

rung hat den Vorteil, dass sie relativ einfach durchzuführen ist und die ^{18}F -Fluorierung von Verbindungen erlaubt, die mit anderen Methoden nur sehr schwer zugänglich sind. Entscheidende Nachteile sind jedoch, dass zum einen die erreichbaren radiochemischen Ausbeuten nur maximal 50 % betragen, da aus jedem ^{18}F -Molekül nur ein Fluoratom reagiert, und zum anderen produktionsbedingt nur niedrige spezifischen Aktivitäten (^{18}F -Fluorid $< 3,7 \cdot 10^{15}$ Bq/mmol; ^{18}F - $\text{F}_2 \approx 3,7 \cdot 10^{11}$ Bq/mmol) erreicht werden können [24, 22]. Weiterhin sind die elektrophilen ^{18}F -Fluorierungsreagenzien sehr reaktiv und damit unselektiv, so dass aufwendige Reinigungsverfahren durchgeführt werden müssen, was die Ausbeute nochmals verringert. Eine Erhöhung der Regioselektivität kann durch die Verwendung von Demetallierungsreaktionen an organometallischen Markierungsvorläufern erzielt werden. Hierzu sind organische Silizium-, Germanium- oder Zinnverbindungen einsetzbar, wobei die Reihenfolge der Substituierbarkeit von Silizium über Germanium zu Zinn ansteigt, so dass mit Zinnvorläufern die höchsten radiochemischen Ausbeuten erzielt werden können [46, 47]. So kann beispielsweise 4- ^{18}F -Fluor-L-phenylalanin über einen entsprechenden Zinnvorläufer mit einer radiochemischen Ausbeute von 25 % dargestellt werden [48].

Nach ^{18}F -FDG ist 6- ^{18}F -Fluordopa (6- ^{18}F -Fluor-3,4-dihydroxy-L-phenylalanin) das klinisch wichtigste fluoridierte PET-Radiopharmakon. 6- ^{18}F -Fluordopa wird in der nuklearmedizinischen Diagnostik zur Untersuchung von Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen, insbesondere dem Parkinson-Syndrom eingesetzt, da mit 6- ^{18}F -Fluordopa der Dopamin-Anabolismus im Gehirn dargestellt werden kann. Die Darstellung von 6- ^{18}F -Fluordopa gelingt sowohl auf nukleophilem als auch auf elektrophilem Weg. Da die mehrstufige nukleophile Synthese mit chiralen Auxiliaren [49] für eine Automatisierung jedoch zu aufwendig ist, wird 6- ^{18}F -Fluordopa in der Routineproduktion durch Fluordestannylierung dargestellt, obwohl dadurch nur max. 30 % radiochemische Ausbeute und niedrigere spezifische Aktivitäten erhalten werden können [50, 51].

Eine weitere Möglichkeit der ^{18}F -Fluorierung besteht in **Markierungssynthesen über prothetische Gruppen**. Bei diesem Verfahren werden zuerst kleine, fluorierbare Moleküle mit Fluor-18 umgesetzt und diese anschließend mit einem entsprechenden Edukt zur Zielverbindung gekoppelt. Von besonderer Bedeutung sind hierbei die ^{18}F -Fluoralkylierung [52, 53], die ^{18}F -Fluoracylierung [54, 55] und die ^{18}F -Fluoramidierung [56]. Beispiele einer Markierung über den Weg der ^{18}F -Fluoralkylierung sind Radiosynthesen von Rezeptorliganden des dopaminergen [57] und serotonergen [58] Systems, Benzodiazepine [59], Aminosäuren [60] und Kokain-Analoga [61]. Die ^{18}F -Fluor-

amidierung und die ^{18}F -Fluoracylierung eignen sich besonders zur Markierung von Proteinen und Peptiden, da hierbei auch in wässrigen Systemen gearbeitet werden kann. Zur Anwendung kommen auch in β -Position markierte Aktivester, die aufgrund ihrer elektrophilen Eigenschaften mit Amino-, Thiol- oder Alkoholfunktionen gekoppelt werden können. Mit dieser Methode konnten die Markierungen der Proteine Biotin [62] und Octreotid [63] erfolgreich durchgeführt werden.

Ein interessantes Markierungsverfahren ist die ^{18}F -Fluorarylierung bei der entweder metallorganische ^{18}F -Markierungssynthons wie 4- ^{18}F Fluorphenyllithium zur Kuppelung oder 1- ^{18}F Fluor-4-haloderivate in Form von Sonogashira Reagentien Verwendung finden. 4- ^{18}F Fluorphenyllithium kann aus 1- ^{18}F Fluor-4-haloderivaten synthetisiert werden, die in hohen radiochemischen Ausbeuten (50–60 %) aus entsprechend symmetrisch mit Halogenen substituierten Diphenyliodonium Salzen zugänglich sind [64, 65]. Die grundsätzliche Anwendbarkeit der ^{18}F -Fluorarylierung wurde an verschiedenen Modellverbindungen gezeigt [65, 66].

4- ^{18}F Fluorphenol ist hinsichtlich der Synthese von ^{18}F -markierten Phenolederivaten ein weiters sehr attraktives Markierungssynthon. Die erste Synthese von n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol wurde über eine modifizierte Balz-Schiemann Reaktion bzw. über die Hydrolyse eines 4- ^{18}F Fluorphenyl-diazonium Salzes mit radiochemischen Ausbeuten von 10-15 % und 15-33 % in 35 bzw. 60 Minuten durchgeführt [67]. Bessere Ausbeuten an n.c.a. ^{18}F Fluorphenol wurden durch die Baeyer-Villiger Oxidation von entsprechend substituierten ^{18}F -markierten Benzophenonderivaten erreicht. So ist die Synthese von n.c.a. 4- ^{18}F Fluorphenol ausgehend von Bis-(4-nitrophenyl)methanon mit radiochemische Ausbeuten bezogen auf eingesetztes ^{18}F Fluorid, von über 60 % bei einer Synthesedauer von etwa 60 Minuten möglich [68].

1.5.2 ^{11}C -Markierungsmethoden

Der aus der Produktion von Kohlenstoff-11 erhaltene primäre Markierungsvorläufer ^{11}C CO₂ ist nur bedingt zur direkten Markierung von Radiopharmaka geeignet. Ein Beispiel ist die Carboxylierung metallorganischer Verbindungen zur Darstellung von ^{11}C Carbonsäuren wie ^{11}C Essigsäure oder ^{11}C Palmitinsäure [69]. Es ist jedoch möglich, ^{11}C CO₂ mit einfachen Mitteln schnell in sekundäre Markierungsvorläufer zu

überführen, die wesentlich vielseitiger für ^{11}C -Markierungen geeignet sind. Mittlerweile steht ein breites Spektrum dieser ^{11}C -Markierungssynthons zur Verfügung (Abb. 1.5.3).

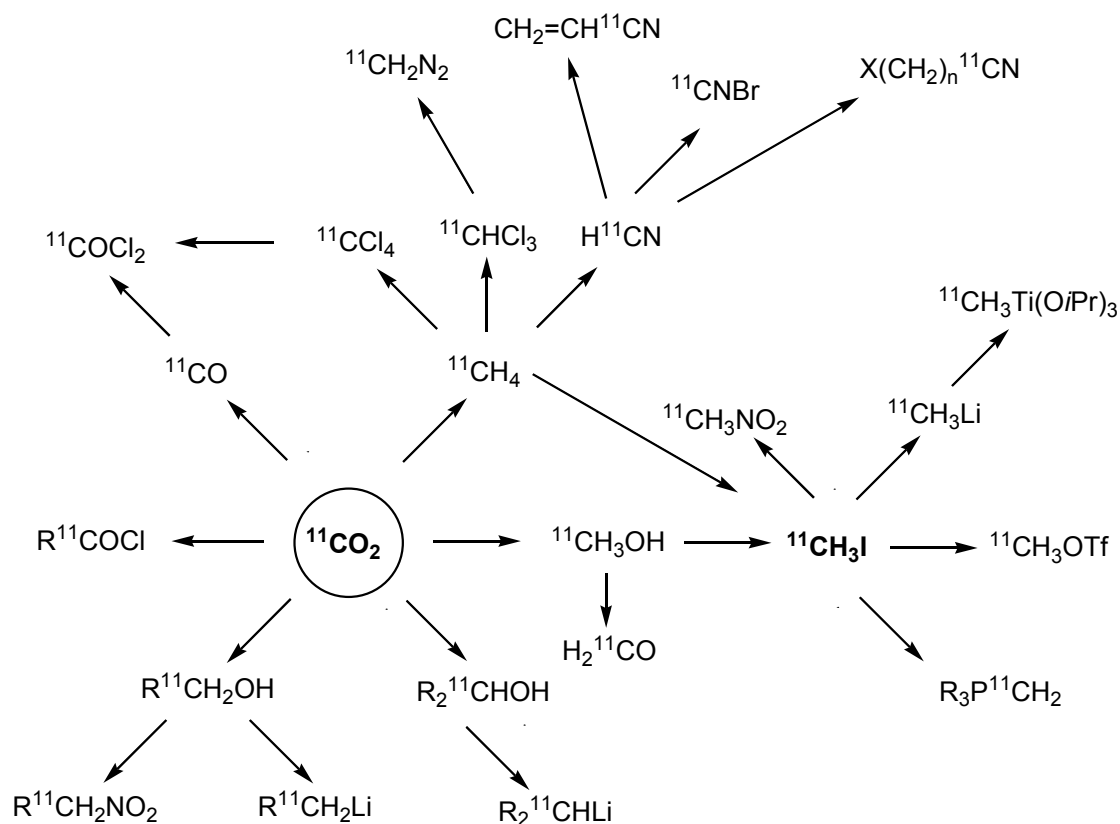


Abb. 1.5.3: Aus $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ zugängliche Markierungssynthons [nach 70]

Der am häufigsten eingesetzte sekundäre Synthesevorläufer ist $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$. Mit ihm lassen sich durch Alkylierung von Aminen, Alkoholen oder Thiolen ^{11}C -methylierte Verbindungen in hohen radiochemischen Ausbeuten erhalten. Relevante Beispiele sind die markierte Aminosäure L-*[methyl- ^{11}C]*Methionin [71] sowie die beiden Dopaminrezeptorliganden *[O-methyl- ^{11}C]*-Racloprid [72] und N- $[^{11}\text{C}]$ Methylspiperon [73]. Ein generelles Problem der ^{11}C -Alkylierungen ist, dass beim Vorliegen mehrerer nukleophiler Zentren nicht wie sonst in der „makroskopischen“ Chemie üblich mit Schutzgruppenkonzepten gearbeitet werden kann, da eine nachfolgende Abspaltung für die kurze Halbwertszeit des Kohlenstoff-11 im Allgemeinen zu unökonomisch ist.

Neben den elektrophilen ^{11}C -Alkylierungsreagenzien können auch nukleophile ^{11}C -Markierungsreagenzien synthetisiert werden. Hierzu zählen vor allem die metallorganischen Verbindungen wie $^{11}\text{CH}_3\text{Li}$ oder das für Aldehyde chemoselektive $^{11}\text{CH}_3\text{Ti}(\text{OiPr})_3$. Ein weiteres ^{11}C -Markierungsreagens ist $[^{11}\text{C}]$ Cyanwasserstoff, der es

zum Beispiel als Nukleophil in einer Streckersynthese ermöglicht markierte Aminosäuren zu synthetisieren [74]. Mit dem aus [^{11}C]Cyanwasserstoff darstellbaren [^{11}C]Bromcyan als Elektrophil ist die Markierung einiger Proteine [75] und Polysaccharide [76] erreicht worden.

Durch die Verfügbarkeit einer großen Palette von Markierungsvorläufern zur ^{11}C -Markierung können zahlreiche biologisch relevante Moleküle markiert werden. Oftmals ist auch eine Mehrfachmarkierung des Zielmoleküls durchführbar, was einerseits die Synthesepanung erleichtert, andererseits aber auch detaillierte Untersuchungen des Metabolismus dieser Substanz erleichtert.

1.5.3 Radioiodierungsmethoden

Von den über dreißig verschiedenen radioaktiven Iodisotopen sind wie erwähnt nur ^{120}I und ^{124}I für die PET geeignet. Sie sind jedoch aufgrund des relativ geringen Positronenanteils (56 bzw. 25 %) der Strahlung, der hohen maximalen Positronenenergien (4,1 bzw. 2,1 MeV) und der bis heute aufwendigen Produktion weniger bedeutend. Größere Bedeutung in den Lebenswissenschaften haben ^{123}I (100 % EC, 159 keV Haupt- γ -Linie) in der SPET, ^{125}I (100 % EC, 35 keV Haupt- γ -Linie) für *in vitro* Langzeituntersuchungen in Radio-Immuno-Assays (RIA) und der β^- -Strahler ^{131}I , der als Therapienuklid in der Behandlung von Schilddrüsenerkrankungen eingesetzt wird. ^{131}I eignet sich durch seine relativ lange Halbwertszeit ($t_{1/2} = 8,02$ Tage), die gut detektierbare γ -Linie (85,5 %, 364 keV) und die einfache Verfügbarkeit, auch als Modellisotop zur Entwicklung neuer Tracer. In dieser Arbeit wurden einige geeignete Verbindungen zur *in vitro* Evaluierung mit Iod-131 markiert, um die ausgearbeiteten Markierungsbedingungen später auf die $^{120/124}\text{I}$ -Markierungen zu übertragen. Deshalb werden an dieser Stelle die wichtigsten Radioiodierungsmethoden beschrieben [aus 77].

Die **direkte elektrophile Radioiodierung** ist die am häufigsten angewendete Methode. Es existieren eine große Anzahl unterschiedlicher Techniken, die mittels einfacher Reaktionsführung hohe radiochemische Ausbeuten erlauben. Molekulares, radioaktiv markiertes Iod (I_2) eignet sich aufgrund seiner hohen Flüchtigkeit, seiner Reaktionsträgheit und dem notwendigen Trägerzusatz nicht zum Arbeiten im n.c.a. Bereich. Elektrophiles trägerarmes Radioiod kann aus dem bei der Radionuklidproduktion erhal-

tenen Iodid durch einfache *in situ* Oxidation erzeugt werden. Als Oxidationsmittel finden hauptsächlich Chloramin-T (CAT), IodogenTM (1,3,4,6-Tetrachloro-3 α ,6 α -diphenylglycouril) und N-Halogensuccinimide Verwendung. Als reaktives Zwischenprodukt wird bei dem Einsatz dieser Reagentien in wässriger, stark saurer Lösung Hypoiodit und in neutraler oder basischer, wässriger Lösung das Iodanalogon von z. B. CAT angenommen [78]. Da die Redoxpotentiale sich nur wenig unterscheiden, erfolgt die Auswahl des Oxidationsmittels nach den jeweils notwendigen Reaktionsbedingungen. CAT erlaubt eine Oxidation in homogenen wässrigen Lösungen. Iodogen löst sich nicht in Wasser und wird aufgrund einer heterogenen Reaktionsführung hauptsächlich zur schonenden Markierung oxidationsempfindlicher Markierungsvorläufer genutzt.

Von den N-Halogensuccinimiden werden N-Chlortetrafluorsuccinimid (NCTFS), N-Chlorsuccinimid (NCS) und selten N-Bromsuccinimid (NBS) zur *in situ* Oxidation verwendet [79, 80, 81]. Bei der Verwendung von NCS in Trifluormethansulfonsäure lassen sich selbst desaktivierte Aromaten noch in annehmbaren Ausbeuten mit Radioiod markieren [82]. Zusätzlich kommen sowohl Oxidationsmittel wie Persäuren [83] und Metallsalze (Ag^+ , Ti^{3+} , Pb^{4+} und Ce^{4+}) [84] als auch die enzymatische [85] und elektrochemische Oxidation [86] zum Einsatz. Bei der elektrophilen Radioiodierung besteht prinzipiell das Problem, dass Isomeregemische auftreten können, da der elektrophile Angriff meist nicht regioselektiv erfolgt.

Eine nahezu regiospezifische Radioiodierung ist durch **elektrophile Demetallierung** möglich. Vor allem für automatisierte Synthesen ist sie aufgrund der meist einfachen Isolierung des Radiopharmakons die günstigste Methode. Hierbei sind allerdings entsprechende, oft aufwendige, Synthesen der Organometallvorläufer notwendig [87].

Anwendung als Markierungsvorläufer finden:

- Organometallverbindungen der IV.-Hauptgruppe (vor allem Zinnverbindungen) [88]
- Organoborverbindungen [89]
- Organothalliumverbindungen [90]
- Quecksilberverbindungen [91]

Durch einen **nicht-isotopen** Halogenaustausch wird eine regiospezifische **Radioiodierung** erzielt, die Cu(I)-gestützt sowohl an elektronenreichen wie -armen Aromaten erfolgen kann. [92]. Wenn Iod-für-Brom ausgetauscht wird, sind hohe spezifische Aktivitäten möglich, obwohl theoretisch die Fähigkeit zum nukleophilen Angriff in der Reihe $\text{Cl} > \text{Br} > \text{I}$ sinkt. Der Mechanismus der Substitution in Gegenwart von Cu(I) wird durch die

Bildung eines quadratisch-planaren Komplexes mit Kupfer(I) als Zentralteilchen erklärt, wodurch die Aktivierungsenergie für die Austauschreaktion erniedrigt wird und ein Eintritt des Radioiods stattfindet [93]. Ein direkter Einsatz von Cu(I)-Salzen oder mittels *in situ* Reduktion von Cu(II) mit schwachen Reduktionsmitteln (Ascorbinsäure, Bisulfit oder Sn(II)-Verbindungen) ist möglich. Die Verwendung von Cu₂SO₄ anstelle von Cu(I)-Halogeniden hat sich als vorteilhafter erwiesen, da es hierbei nicht zur Bildung anderer Halogenarene als Nebenprodukt kommen kann [94].

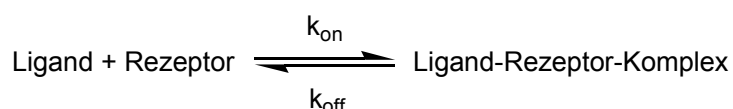
Vorteile dieser Methode sind die wesentlich einfachere Darstellung der Markierungsvorläufer, deren Stabilität und die hohe Regioselektivität. Problematisch erweisen sich jedoch oft die hohen Reaktionstemperaturen von bis zu 180 °C, den im Vergleich zur den elektrophilen Iodierungen erheblich längeren Reaktionszeiten (Minuten bis Stunden) und die unter Umständen schwierige Trennung des markierten Iodproduktes vom Bromvorläufer.

1.6 Bindungsstudien mit Radioliganden

1.6.1 Grundlagen

Unter einem Radioliganden sei hier eine radioaktiv markierte Substanz verstanden, die an Rezeptoren, Transportern oder Hormonen selektiv binden kann (im Folgenden pars pro toto als Rezeptor bezeichnet). Über Bindungsstudien können wichtige Informationen zur Affinität und Selektivität der Ligand-Rezeptor Wechselwirkung erhalten werden.

Bindungsstudien basieren auf folgendem Gleichgewicht der Bindung des Liganden an den Rezeptor:



Basis der Bindungsstudien sind folgende vereinfachte Annahmen:

- Eine Bindung entsteht dann, wenn Ligand und Rezeptor aufeinander treffen. Die Anzahl der pro Zeiteinheit ausgebildeten Bindungen entspricht $c(\text{Ligand}) \cdot c(\text{Rezeptor}) \cdot k_{\text{on}}$ wobei k_{on} die Geschwindigkeitskonstante der Bindung mit der Einheit $\text{M}^{-1}\text{min}^{-1}$ ist.

- Die Dauer der Ligand-Rezeptor-Bindung ist unter anderem abhängig von der Affinität, die der Ligand zum Rezeptor hat. Die Dissoziationsrate (Anzahl der Abspaltungen pro Zeiteinheit) ist dabei gegeben durch $c(\text{Protein-Rezeptor-Komplex}) \cdot k_{\text{off}}$, wobei k_{off} die Geschwindigkeitskonstante der Dissoziation mit der Einheit min^{-1} ist.
- Nach der Dissoziation liegen Ligand und Rezeptor genauso vor wie vor der Ligand-Rezeptor-Bindung.
- Das Gleichgewicht ist erreicht, wenn die Rate der Komplexbildung und der Dissoziation gleich sind.

Die thermodynamische Dissoziationskonstante K_D des Gleichgewichtes ist direkt ein Maß für die Affinität des Liganden zum Rezeptor. K_D entspricht der Konzentration an Ligand, bei der im Gleichgewicht die Hälfte aller Rezeptoren besetzt ist und ist gegeben durch:

$$K_D = \frac{k_{\text{off}}}{k_{\text{on}}} = \frac{c(\text{freier Rezeptor}) \cdot c(\text{freier Ligand})}{c(\text{Rezeptor – Ligand – Komplex})} = \frac{c(R) \cdot c(L)}{c(RL)} \quad [\text{mol/l}] .$$

Es ergeben sich daraus zwei Möglichkeiten zur Bestimmung von K_D . Einen kinetischen Ansatz, bei dem durch Messung der Geschwindigkeitskonstanten k_{on} und k_{off} K_D berechnet wird, und auf den hier nicht näher eingegangen werden soll, oder über Konzentrationsbestimmungen der im Gleichgewicht vorliegenden Reaktionspartner. Da die Anzahl der im Gleichgewicht vorliegenden freien Rezeptoren $c(R)$ im Allgemeinen nicht zu ermitteln ist, wird die Gesamtzahl der für die Rezeptor-Ligand-Bindungen zur Verfügung stehenden Rezeptoren B_{max} als Parameter verwendet.

$$B_{\text{max}} = c(R) + c(RL)$$

Durch Anwendung des Massenwirkungsgesetzes lässt sich für das Ausmaß der spezifischen Bindung $c(RL)$ bei einer gegebenen Temperatur folgender Zusammenhang herleiten:

$$c(RL) = \frac{B_{\text{max}} \cdot c(L)}{K_D + c(L)}$$

Diese Gleichung beschreibt eine Hyperbel (Bindungsisotherme), wobei $c(L)$ die Konzentration an freiem Radioligand ist.

Sättigungs- und Verdrängungsstudien sind Möglichkeiten, um Bindungsdaten zu bestimmen. Die Auswertung dieser Studien erfolgt klassisch durch entsprechende Linearisierungen.

1.6.2 Sättigungsexperimente

Mit Sättigungsstudien wird die spezifische Bindung eines Radioliganden im Gleichgewicht in Abhängigkeit von seiner Konzentration bestimmt. Dadurch lassen sich drei Parameter ermitteln, die Aussagen über das Bindungsverhalten des Liganden erlauben: die Affinität des Liganden (K_D), die Rezeptoranzahl (B_{\max}) und das Ausmaß der unspezifischen Bindung.

In Abb. 1.5.1 ist ein Beispiel für ein typisches Ergebnis eines Sättigungsexperimentes schematisch dargestellt.

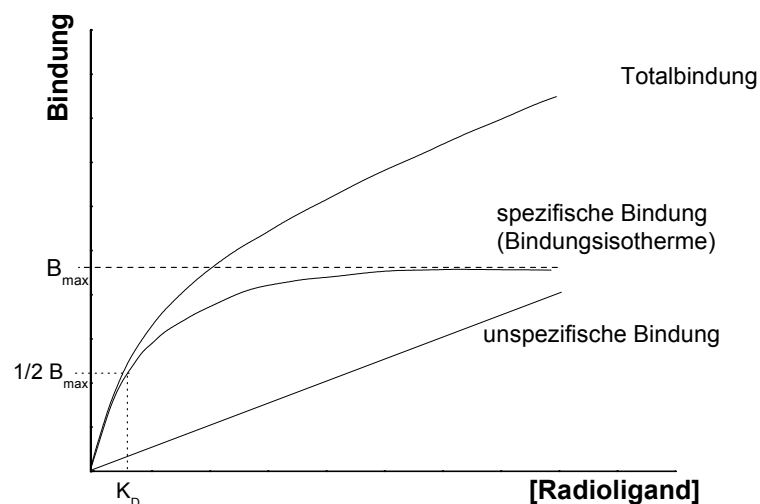


Abb. 1.6.1: Typische Kurvenverläufe eines Bindungsexperiments mit Radioliganden

Man erkennt, dass die Bindung stetig mit zugegebener Menge an Radioligand steigt. Diese Totalbindung setzt sich zusammen aus spezifischer und unspezifischer Bindung. Die spezifische Bindung läuft einem Grenzwert entgegen, der B_{\max} entspricht und aus der Differenz von Totalbindung und unspezifischer Bindung ermittelt werden kann. Zunächst muss also neben der im Sättigungsexperiment erhaltenen Totalbindung noch das Ausmaß der unspezifischen Bindung bestimmt werden. Dies geschieht durch Messung der Bindung des Radioliganden in Gegenwart eines nicht markierten Liganden,

der alle Bindungsstellen besetzt und deshalb in wesentlich höheren Konzentrationen als der Radioligand vorliegen muss. Idealerweise erhält man dabei einen linearen Zusammenhang zwischen zugegebener Menge an Radioligand und unspezifischer Bindung (s. Abb. 1.6.1).

Eine Vereinfachung der Datenauswertung ist durch eine Linearisierung in Form eines sog. „Scatchard Plots“ möglich. Wenn das Verhältnis der Konzentrationen von gebundenem zu freiem Liganden gegen die Konzentration von gebundenen Liganden aufgetragen wird, kann K_D aus der Steigung, und B_{\max} aus dem X-Achsenabschnitt bestimmt werden:

$$\frac{c(\text{gebundener Ligand})}{c(\text{freier Ligand})} = \frac{c(RL)}{c(L)} = -\frac{1}{K_D} \cdot c(RL) + \frac{B_{\max}}{K_D}.$$

Eine genauere Bestimmung der Bindungsdaten erfolgt jedoch über rechnergestützte nicht-lineare Regression.

1.6.3 Verdrängungsstudien

Mit Sättigungsstudien können zwar Bindungsparameter bestimmt werden, sie haben jedoch den Nachteil, dass der zu überprüfende Ligand in radioaktiv markierter Form vorliegen muss. Um zu entscheiden, ob ein Ligand überhaupt Affinität zum Rezeptor besitzt, oder um die Bindungseigenschaften verschiedener Liganden zu vergleichen ohne jeden markieren zu müssen, sind Verdrängungsstudien die Methode der Wahl.

In Verdrängungsstudien wird die Bindung eines mit konstanter Konzentration eingesetzten Radioliganden, dessen K_D bekannt ist, in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Liganden untersucht, dessen Bindungsparameter bestimmt werden sollen. Ein typischer Kurvenverlauf der Bindung in Verdrängungsstudien ist in Abb. 1.6.2 schematisch dargestellt.

Bei niedrigen Konzentrationen des kalten Liganden erhält man ein Plateau, das der Totalbindung, bei hohen Konzentrationen ein Plateau, welches der unspezifischen Bindung des Radioliganden entspricht. Die Konzentration an nicht markiertem Ligand,

die genau dem Wendepunkt der Verlaufskurve entspricht, wird als IC_{50} (inhibitory concentration 50 %) bezeichnet und gibt an, bei welcher Konzentration der unmarkierte Ligand die Hälfte der spezifischen Bindung des Radioliganden verdrängt hat.

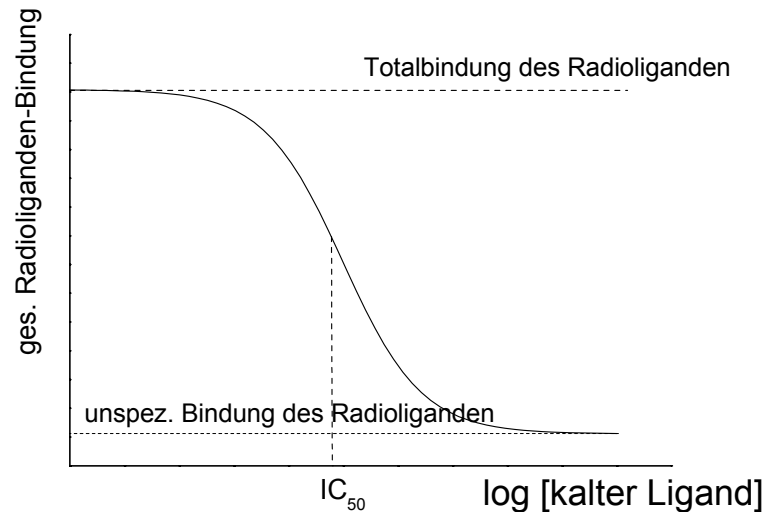


Abb. 1.6.2: Typischer Kurvenverlauf bei einer Verdrängungsstudie mit bekanntem Radioliganden

Der Wert von IC_{50} ist abhängig von:

- der Gleichgewichtskonstanten K_i der Bindungsreaktion des unmarkierten Liganden an den Rezeptor. IC_{50} und K_i verhalten sich proportional zueinander. Ist K_i niedrig, ist die Affinität des Liganden hoch und auch der IC_{50} -Wert klein.
- der eingesetzten Konzentration an Radioligand. Je höher die Konzentration des Radioliganden ist, desto mehr kalten Liganden benötigt man, um 50 % des Radioliganden zu verdrängen.
- der Affinität (K_D) des Radioliganden gegenüber dem Rezeptorsystem, denn man benötigt mehr kalten Ligand um einen relativ höher affinen Radioliganden zu verdrängen; das heißt je kleiner K_D (Radioligand), umso größer ist der IC_{50} -Wert.

Cheng und Prusoff [95] leiteten folgende Beziehung her, die den Zusammenhang von K_i mit dem IC_{50} des „kalten“ Liganden, mit K_D und der eingesetzten Konzentration des Radioliganden herstellt.

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{c(\text{Radioligand})}{K_D}}$$

Im Idealfall ist der K_i eines Liganden gleich seiner Dissoziationskonstante K_D . Generell ist K_D jedoch kleiner als K_i , da K_i einen unspezifischen Bindungsanteil enthält, der in Verdrängungsstudien nicht zu bestimmen ist. Der K_i -Wert ist somit ein Richtwert, der eine Einschätzungen der Affinität eines Liganden erlaubt.

1.7 Das Adenosinrezeptorsystem

Die Adenosinrezeptoren (AR) werden gegenwärtig nach molekularbiologischen, pharmakologischen und biochemischen Gesichtspunkten in vier Subtypen (A_1 , A_{2A} , A_{2B} und A_3) unterteilt [96, 97, 98, 99]. Allen AR Subtypen ist gemeinsam, dass sie über ein G-Protein an das Effektorsystem der Adenylatcyclase (AC) gekoppelt sind. Der A_1 - und der A_3 AR können die Adenylatcyclaseaktivität inhibieren (via G-Protein G_i), während der A_{2A} - und der A_{2B} AR diese stimulieren (via G-Protein G_s). Durch die Aktivierung der AC wird die zelluläre cAMP-Konzentration (cAMP = zyklisches Adenosinmonophosphat) gesteuert. cAMP wiederum ist verantwortlich für die Aktivität der Proteinkinase A welche die Übertragung von Phosphatresten auf Funktionsproteine katalysiert und diese so aktiviert. Eine Stimulierung des A_1 -, A_{2B} - und A_3 AR bewirkt zusätzlich noch eine Aktivierung der Phospholipase C die zu einer Spaltung des Membranphospholipids Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat in Inositoltriphosphat (IP_3) und Diacylglycerin (DAG) führt. IP_3 fördert die Freisetzung von Ca^{2+} aus Speichern, DAG stimuliert die Proteinkinase C.

Adenosin zeigt eine hohe Aktivität an A_1 - und A_{2A} AR (K_i = 73 und 150 nM) und eine niedrige Affinität an A_{2B} und A_3 (K_i = 5,1 und 6,5 μ M) woraufhin die Einteilung in *high affinity* (A_1 , A_{2A}) und *low affinity* (A_{2B} , A_3) AR vorgenommen wurde.

Adenosin ist kein klassischer Neurotransmitter. Als Abbauprodukt des wichtigsten chemischen Energieträgers ATP regelt es die normale Stabilität gewisser Zellfunktionen wie z. B. den Sauerstoffverbrauch. Die Auswirkungen von Adenosin sind daher allgemein anhaltender und umfassender als die „echter“ Neurotransmitter. Daher bezeichnet man Adenosin auch als Neuromodulator. Die einzelnen Subtypen des AR werden in unterschiedlichem Ausmaß in verschiedenen Geweben exprimiert. In Tabelle 1.7.1 sind die verschiedenen AR-Subtypen, ihre jeweilige physiologische Rolle und ihr Vorkommen zusammengestellt [nach 100].

Tabelle 1.7.1: Verteilung und physiologische Funktion der Adenosinrezeptoren [nach 100]

	A₁AR	A_{2A}AR	A_{2B}AR	A₃AR
G-Protein-Kopplung	G _i	G _s	G _s	G _i
Effektorsysteme	AC ↓ K ⁺ -Kanäle ↑ Ca ²⁺ -Kanäle ↓ IP ₃ ↑	AC ↑	AC ↑ IP ₃ ↑	AC ↓ IP ₃ ↑
Gewebe mit hoher Rezeptordichte	Gehirn: Cortex, Hippocampus, Cerebellum, Rückenmark Fettgewebe; Herz; Niere	Gehirn: Striatum, Nucleus Accumbens Thrombozyten Herz; Lunge; Niere; Milz; Fettgewebe; Thymus, vasc. Endothelzellen	Gehirn, Lunge, Dickdarm, Blinddarm, Harnblase	Spezies-abhängig: Ratte: Testes >> Lunge, Niere, Herz > Gehirn Mensch: Lunge, Leber >> Gehirn, Aorta, Niere > Testes > Herz

Sowohl die A₁- als auch die A_{2A}AR spielen wichtige Rollen im kardiovaskulären und zentralen Nervensystem. Am Herz verursacht Adenosin negativ chronotropische (den zeitlichen Ablauf am Herz), dromotropische (Erregungsleitung am Herz) und inotropische (die Leistungsfähigkeit/Kontraktilität des Herzens betreffende) Effekte, welche über die hemmende Wirkung einer Erregung des A₁-Subtyps vermittelt werden. Die unter anderem auf Endothelzellen und Zellen der glatten Muskulatur vorkommenden A_{2A}AR sind für die durch Adenosin vermittelte Vasodilatation (Weitstellung von Blutgefäßen) verantwortlich. Dies ist auch der Grund, warum Adenosin weniger für spezifische Effekte als für die Aufrechterhaltung einer Balance zwischen Energieverbrauch und Bereitstellung oder Sauerstoffangebot und -verbrauch verantwortlich gemacht wird (Neuromodulator) [100, 101]. Die Erregung von A₁AR bewirkt eine Reduzierung der Sauerstoffnachfrage und diejenige von A₂ ermöglicht eine Erhöhung der Verfügbarkeit von Sauerstoff. Beide Effekte haben letztlich die Aufgabe, Zellen vor Schäden durch kurzfristige Ungleichgewichte im Sauerstoffhaushalt zu bewahren.

Weiterhin regulieren beide AR Subtypen die neuronale Aktivität und schützen auf diese Weise Nervenzellen [100]. Neuronale A₁AR finden sich hauptsächlich im Cortex, Hippocampus, Cerebellum und Rückenmark. Ihre Stimulation führt zu einer verminderten Ausschüttung von Neurotransmittern und somit einem reduzierten neuronalen „firing“.

A₁AR Agonisten (Verbindungen, die an den Rezeptor binden und einen Effekt auslösen) haben daher eine potentielle Anwendung als Antiepileptika [102]. Im Gegensatz dazu können A₁AR Antagonisten (Verbindungen, die an den Rezeptor binden, aber keinen Effekt an ihm auslösen) stimulierende Wirkung auf das zentrale Nervensystem haben, weshalb sie als Therapeutika bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer in Betracht kommen [103, 104].

Der A_{2A}AR, der im zentralen Nervensystem hauptsächlich im Striatum vorkommt, ist an einem komplizierten neuronalen Regelkreis mit Dopaminrezeptoren beteiligt. Die Behandlung der Parkinsonschen Krankheit, die mit einer Verringerung der Dopaminkonzentration im Striatum als Konsequenz der Degeneration der Dopamin-produzierenden Zellen der Substantia Nigra zusammenhängt, wird daher in diesem Zusammenhang als potentielles Ziel A_{2A} selektiver Antagonisten diskutiert [105, 106].

Der A_{2B}AR lässt sich an vielen Zellen nachweisen, kommt aber in größerer Zahl hauptsächlich in der Blase und dem Darm vor. Dieser Subtyp scheint vor allem für den Tonus (Spannung) der Gefäße und die Funktion von Mastzellen verantwortlich zu sein.

Da der A₃AR generell nur in geringem Maße exprimiert wird und seine Verteilung auch von Spezies zu Spezies extrem variiert, gibt es zurzeit keine gesicherten Erkenntnisse über seine physiologische Bedeutung.

1.8 Adenosinrezeptorliganden für die Positronen-Emissions-Tomographie

PET-Studien mit Radioliganden bieten die Möglichkeit, Rezeptoren anatomisch zu lokalisieren und deren Dichte in verschiedenen Geweben zu bestimmen. Zusätzlich kann die Affinität der Liganden zum Rezeptor bestimmt werden, was in der Praxis jedoch selten angewendet wird. Da Adenosinrezeptoren in Regulierungsprozessen des zentralen Nervensystems (ZNS) eine entscheidende Rolle spielen, ist die PET ein nützliches Instrument, um Hypothesen hinsichtlich der Rolle von veränderten Adenosinrezeptordichten bei neurodegenerativen Erkrankungen zu prüfen. Sowohl im ZNS als auch in peripheren Organen kann die Bestimmung von Rezeptordichten durch geeignete Ligan-

den mit PET einen Zusammenhang zwischen Rezeptordichte und auftretender Erkrankung liefern. Bei Herzerkrankungen, wie dem „sick sinus syndrom“ [107] oder der Ischämie [108], werden markierte Adenosinrezeptorliganden als geeignete PET-Pharmaka evaluiert.

Die A_{2A} AR kommen hauptsächlich in den basalen Ganglien des Gehirns vor. Da sie dort kolokalisiert mit D_2 -Rezeptoren sind, wird vermutet, dass sie ebenfalls wie diese die Kontrolle des Bewegungsapparates steuern [109]. Dies würde A_{2A} AR-PET zu einem Diagnoseverfahren für Parkinson machen [110]. Außerdem wird ein Zusammenhang zwischen A_{2A} AR und Schizophrenie diskutiert [111]. Hier bietet die PET eine Möglichkeit mehr Einzelheiten über solche neurodegenerative Erkrankungen zu erlangen.

Alle zurzeit in der Entwicklung befindlichen AR-Radioliganden für die PET sind Antagonisten [112]. Die Gründe dafür sind unterschiedlicher Art. Zum einen ist es für die Bindung eines Agonisten erforderlich, dass der Rezeptor an ein G-Protein gekoppelt ist, normalerweise ist aber nur ein Teil der Rezeptoren in einem gekoppelten Zustand. Zum anderen sind Adenosin, welches die Leitstruktur aller AR Agonisten darstellt, und die meisten seiner Derivate Substrate für Membrantransporter oder für die Adenosinkinase in den Zellen. Dies führt jedoch zur Abnahme dieser Radioliganden im extrazellulären Raum, in dem sich die Rezeptoren befinden, und letztlich zu erhöhter, unspezifisch auftretender Strahlung. Dies reduziert die Möglichkeiten, mit Agonisten in der PET spezifische AR-Bindungen zu messen. Zusätzlich ist die Phosphorylierung von Adenosinderivaten im Gefäßendothel ein sehr effizienter Prozess, durch den eine Durchdringung der Blut-Hirn-Schranke verhindert wird [113].

Von verschiedenen heterozyklischen Verbindungen ist bekannt, dass sie eine antagonistische Wirkung an Adenosinrezeptoren haben. Zu diesen Verbindungen gehören zum Beispiel Xanthine [114], Adenine und 7-Deaza-adenine [115], 7-Deaza-8-azapurine [116], Triazolo[1,5-a]chinoxaline [117] und Pyrazolo[1,5-a]pyridine [118]. Den Prototyp der AR Antagonisten bilden die Methylxanthine wie Koffein, dessen zentral wirksame Effekte von Menschen auf der ganzen Welt geschätzt werden. Xanthine gehören zu den ersten AR Antagonisten, an denen Modifizierungen durchgeführt wurden, um Subtypspezifitäten zu erreichen. So unterscheidet man heute bei den AR Antagonisten generell zwei Gruppen, die Xanthin- und die nicht-Xanthin-Antagonisten.

Zurzeit werden sowohl A₁- als auch A_{2A}AR Antagonisten hinsichtlich ihrer Eignung als PET Radioliganden synthetisiert und evaluiert. Bis auf einen Fluor-18 markierten wurden alle diese Liganden mit Kohlenstoff-11 markiert.

1.8.1 Radioliganden für den A₁-Adenosinrezeptor

Der Radiotracer [¹¹C]KF 15372 (K_i = 3,0 nM; Abb. 1.8.1) ist der erste A₁AR Antagonist, der für die PET entwickelt wurde [119, 120]. Die radiochemische Ausbeute beträgt aufgrund der langen Syntheszeit von 45-55 Minuten nur 5 %. Ausgangssubstanz dieser Markierung ist [¹¹C]CO₂, dass mit Ethylgrignard zur [1-¹¹C]Propionsäure umgesetzt wird, woraus dann durch Reduktion und anschließender Reaktion mit HI [1-¹¹C]-1-Iodpropan, das letztendliche Alkylierungsreagens von 1-*nor*-Propylxanthin, hergestellt wird. Das Produkt lässt sich jedoch mit einer radiochemischen Reinheit > 99 % und mit einer sehr variablen spezifischen Aktivität zwischen 10 und 56 GBq/μmol (0,3-1,5 Ci/μmol) erhalten.

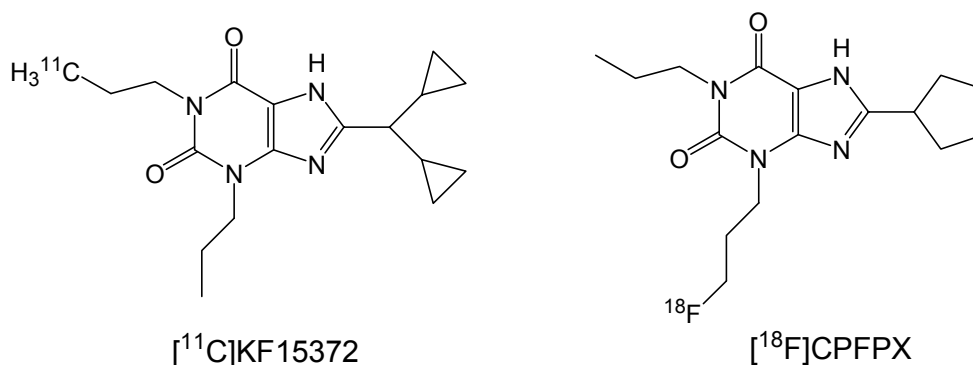


Abb. 1.8.1: Strukturen von PET Radioliganden für den A₁-Adenosinrezeptor

Studien an Mäusen zeigten, dass innerhalb von 5 Minuten nach intravenöser Injektion ein Maximum von 1,9 % der injizierten Dosis pro g Körpergewicht (ID/g) im Hirn nachweisbar waren. Höchste Anreicherungen des Liganden wurden dabei im Hippocampus, im Cortex und im Striatum gemessen. Die Gabe von kaltem Ligand verursachte eine Verringerung der Radioligandenkonzentration um 57 % [119, 121].

Ein weiterer A₁AR Ligand, der in PET-Untersuchungen Verwendung findet, ist 8-Cyclopentyl-3-(3-[¹⁸F]fluoropropyl)-1-propylxanthin (Abb. 1.8.1) [¹⁸F]CPFPX (K_i = 0,18 nM) [122]. Die Radiosynthese besteht aus der nukleophilen ¹⁸F-Fluorierung von 8-Cyclo-

pentyl-7-pivaloyloxymethyl-1-propyl-3-(3-tosyloxypropyl)xanthin im Kryptatsystem und anschließender Hydrolyse der Pivaloxymethylschutzgruppen sowie chromatographischer Reinigung. Die radiochemische Ausbeute beträgt 55 % wobei die radiochemische Reinheit über 98 % liegt. Die erreichbaren spezifischen Aktivitäten sind größer als 270 GBq/ μ mol (7,3 Ci/ μ mol) [123]. Studien von [18 F]CPFPX in Mäusen zeigten eine Aufnahme im Gehirn von 1,7 % ID/g nach 5 Minuten, der mit kaltem Antagonisten zu 60-70 % verdrängt werden konnte (abhängig von der Hirnregion). Der Metabolismus des Radioliganden im zentralen Nervensystem ist vernachlässigbar, im Blut entstehen jedoch im Gegensatz dazu zwei polare Metabolite [124, 125]. Studien an Affen [126] ergaben, dass die Aufnahme im Gehirn nach 10 Minuten mit 0,02 % ID/cm³ am größten ist, jedoch bereits nach 40 Minuten auf 0,005 % ID/cm³ abfällt. Die Verteilung im Hirn entsprach den Regionen in denen schon quantitative Autoradiographien hohe A₁AR-Konzentrationen nachgewiesen haben [127]. Eine Verdrängung von [18 F]CPFPX mit kaltem Ligand läuft annähernd quantitativ, was ein Beweis für eine spezifische Bindung des Liganden ist. Im übrigen Gewebe wird [18 F]CPFPX schnell metabolisiert, wobei die entstehenden Metabolite, wie PET-Aufnahmen des Herzens zeigten, zum Teil affin aber unspezifisch binden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die spezifische Bindung von [18 F]CPFPX und [11 C]KF15372 es erlaubt, A₁AR im ZNS zu untersuchen, wobei jedoch ihre starke Metabolisierung außerhalb des ZNS und die hohe unspezifische Bindung ihrer Metabolite eine Verwendung zur Abbildung anderer Organe einschränkt. Die höhere Affinität von [18 F]CPFPX zu A₁AR, die höhere spezifische Aktivität und die längere physikalische Halbwertszeit sind Vorteile gegenüber [11 C]KF15372. Da die A₁AR Dichte im Gehirn um mehrere Einheiten größer ist, als die in den peripheren Organen, sind für aussagekräftige Tomographien außerhalb des ZNS offenbar noch affinere Liganden notwendig.

1.8.2 Radioliganden für den A_{2A}-Adenosinrezeptor

Der erste mit Positronenemittern trägerarm markierte, A_{2A} selektive AR Antagonist war das Xanthinanalogon (E)-8-(3,4-dimethoxystyryl)-1,3-dipropyl-7-[11 C]methylxanthin, [11 C]KF17837 (Abb. 1.8.2) [128]. Die Markierung erfolgt durch eine Alkylierung mit [11 C]Methyliodid innerhalb von 20-25 Minuten und radiochemischen Ausbeuten im Bereich von 19-50 % sowie 99 % radiochemischer Reinheit. Die erreichbaren spezifi-

schen Aktivitäten betragen 17-100 GBq/μmol (0,5 - 3 Ci/μmol). Obwohl bekannt ist, dass Styrylxanthine in Lösung einer Photoisomerisierung zum entsprechenden Z-Isomer unterliegen [129], ist der Ligand in dunklen Glasgefäßen für einen Zeitraum von mindestens 30 Minuten stabil. *Ex vivo* Autoradiographien an Kaninchen [130] zeigten, dass die Aufnahme im Striatum am größten ist und sich mit kaltem KF17837 blockieren lässt. In übergreifenden Vergleichsstudien mit drei anderen Styrylxanthinen an Mäusen und Ratten [131] konnte mit [¹¹C]KF18446 ((E)-8-(3,4,5-trimethoxystyryl)-7-[¹¹C]methylxanthin) (Abb. 1.8.2) eine noch bessere Abbildung des Striatums erreicht werden. Eine unabhängige *in vivo* Evaluierung von [¹¹C]KF17837 an Affen [132] zeigte jedoch nur eine geringe Aufnahme in das ZNS. Des Weiteren entsprach die Verteilung im Hirn nicht den erwarteten, durch Autoradiographie bestimmten, Rezeptorverteilungen. Außerdem fand durch die Gabe von nicht radioaktiv markierten Liganden keine Verdrängung statt, was für eine hohe unspezifische Bindung spricht.

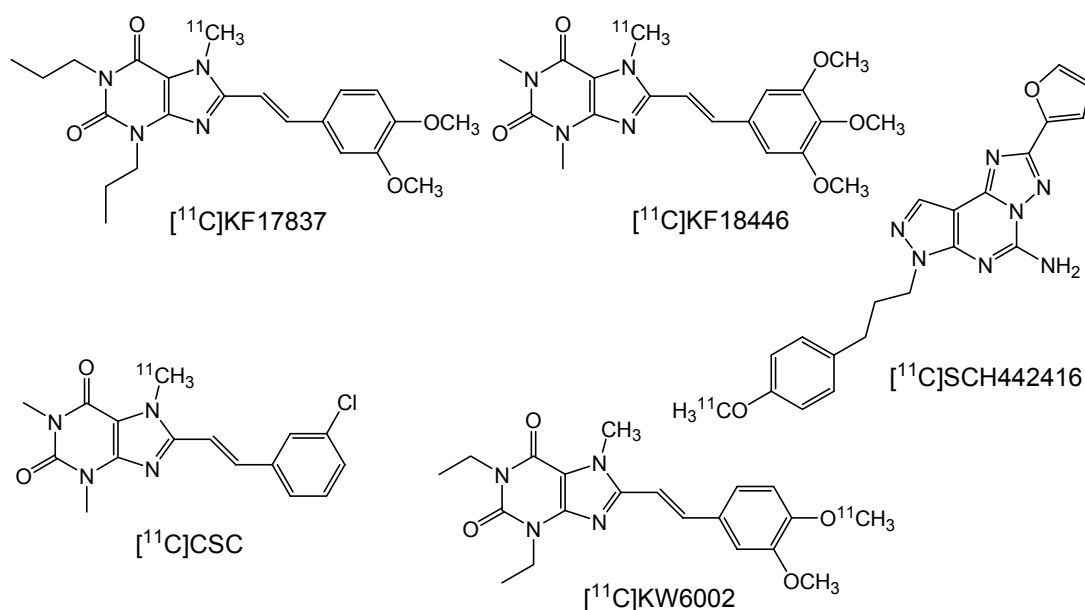


Abb. 1.8.2: Struktur der bisher synthetisierten PET Radioliganden für den A_{2A}-Adenosinrezeptor

[¹¹C]CSC, oder (E)-8-(3-Chlorostyryl)-1,3-dimethyl-7-[¹¹C]methylxanthin (Abb. 1.8.2) ist das ¹¹C-markierte Analogon des A_{2A}AR Antagonisten 8-(3-Chlorostyryl)koffein [133]. Die Radiosynthese besteht aus einer Alkylierung mit [¹¹C]CH₃I, welche 25-30 Minuten dauert und radiochemische Ausbeuten von ca. 44 % liefert. Die erreichbaren spezifischen Aktivitäten liegen zwischen 1,9 und 5,6 GBq/μmol (50-150 mCi/μmol). Ein

Problem ergibt sich bereits aus der Löslichkeit der Verbindung. Die Injektionslösung wird mit 10 % DMSO V/V hergestellt und ist daher für Studien am Menschen nicht geeignet.

Ein Derivat des sehr selektiven und affinen A_{2A} AR Antagonisten SCH58261 [134], [^{11}C]SCH442416 (Abb. 1.8.2), ist ebenfalls markiert und auf seine Eigenschaften als PET-Tracer hin untersucht worden [135]. Die Radiosynthese erfolgt durch Alkylierung des Phenolderivats mit [^{11}C]CH₃I. Die radiochemischen Daten dazu fehlen in der Literatur. Bioverteilungen des Liganden in Ratten ergaben maximale Organverteilungen in der Leber, Nebenniere und Niere von 0,94, 0,85 und 0,9 % ID/g, welche aber schnell abfallen. In den meisten Hirnregionen werden Anreicherungen von 0,16-0,20 % ID/g gemessen wobei die höchste mit 0,43 % ID/g nach 5 Minuten im Striatum auftritt und für 15 Minuten konstant bleibt. Untersuchungen zum Ausmaß der unspezifischen Bindung wurden nicht veröffentlicht, so dass keine Aussagen darüber möglich sind, inwieweit die gemessene Aktivität von besetzten AR stammt.

KW6002, (E)-1,3-diethyl-8-(3,4-dimethoxystyryl)-7-methylxanthin (Abb. 1.8.2) wurde mit [^{11}C]CH₃I ausgehend von dem O-desmethyl Vorläufer KF23325 mit einer chemischen Reinheit von 98 % und einer radiochemischen Ausbeute von 94-100 % markiert [136], wobei die radiochemische Verunreinigung aus dem durch Photoisomerisierung entstehenden Z-Isomer besteht. Nach intravenöser Gabe wurde die Radioaktivität über einen Zeitraum von 2 Stunden im Blut und Plasma sowie in peripheren Organen und ausgewählten Hirnarealen bestimmt. Im Gehirn zeigt [^{11}C]KW6002 die höchste Retention im Striatum mit eindeutigen Hinweisen auf eine Sättigung und die geringste Retention im frontalen Cortex, einer Region mit sehr geringer A_{2A} AR-Dichte. Eine spezifische Bindung wird jedoch auch in Hirnregionen beobachtet, die nur eine geringe A_{2A} AR Dichte aufweisen. Der Versuch, diese Bindung mit KF15372 oder ZM241385 zu blockieren und so die Art der Ligandenbindung zu bestimmen, schlug fehl.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sowohl für [^{11}C]KF17837 als auch für [^{11}C]CSC die über PET bestimmten Bioverteilungen in Primatenhirnen nicht mit den Rezeptorverteilungen, die über autoradiographische Studien bestimmt wurden, übereinstimmen. Der erst kürzlich beschriebene Radioligand [^{11}C]SCH442416 steht erst am Anfang der präklinischen Evaluierung, so dass detaillierte Aussagen noch nicht möglich sind. Weiterhin fehlt bei allen oben aufgeführten Ligandenstudien der konkrete Nachweis, dass die Liganden die Blut-Hirn-Schranke überwinden.

Kapitel 2

Aufgabenstellung

Mit Positronenstrahlern trägerarm markierte, selektive und hochaffine Adenosinrezeptorliganden stellen ein Werkzeug dar, *in vivo* physiologische und pathologische Veränderungen des Adenosinrezeptor-Systems bei neurodegenerativen Erkrankungen mit Hilfe der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) zu bestimmen. Von den vier Adenosinrezeptor-Subtypen sind bis heute nur für den A₁-Adenosinrezeptor (A₁AR) geeignete PET-Radioliganden synthetisiert worden. Zur Erforschung der Rolle des AR-Systems bei Erkrankungen, wie z.B. Morbus Parkinson, werden jedoch für *in vivo* Untersuchungen geeignete, A_{2A}-selektive AR-Radioliganden benötigt.

Alle bisher synthetisierten A_{2A} selektiven und affinen Radioliganden eignen sich nicht für eine Anwendung in der PET. Meist sind sie zu lipophil, binden zu unspezifisch, besitzen keine ausreichende Wasserlöslichkeit, um in die Blutbahn injiziert zu werden, überwinden die Blut-Hirn-Schranke nicht oder sind metabolisch nicht stabil. Die Tatsache, dass sich fast alle bekannten, bisher markierten A_{2A}AR Antagonisten von derselben Grundstruktur ableiten, verringert die Erfolgsaussichten, vorhandene Liganden in markierter Form als PET-Tracer zu verwenden. Erschwerend kommt hinzu, dass bisher kein selektiver und hochaffiner Ligand existiert, der Fluor enthält. Das Radionuklid Fluor-18 ($t_{1/2} = 109,6$ min) bietet für die PET aufgrund seiner Zerfallseigenschaften jedoch besondere Vorteile und ist gegenüber anderen Positronenstrahlern, selbst Kohlenstoff-11 ($t_{1/2} = 20,4$ min), mit dem authentische Markierungen möglich sind, vorzuziehen.

Ziel dieser Arbeit ist es, auf Basis der Leitstruktur der bekannten A_{2A}AR Antagonisten, dem 6-Aminopurin, neue potentielle Liganden zu synthetisieren, zu markieren und deren Anwendungsmöglichkeit zu evaluieren. Bei der Derivatisierung des 6-Aminopurins muss eine spätere Anwendung der Liganden als Radiotracer in der Hirndiagnostik berücksichtigt werden. Die Wahl der Substituenten orientiert sich daher neben den Anforderungen einer optimalen Rezeptorbindung an radiochemischen Gesichtspunkten der Markierungsmöglichkeiten und pharmakologischen Parametern. Dabei sind wie erwähnt vor allem Fluor-18 enthaltende Derivate von Interesse.

Da der A_{2A}-Adenosinrezeptor zwar isoliert und kloniert wurde, jedoch keine Röntgenstrukturanalyse vorliegt, gibt es kein gesichertes Bindungsmodell. Die Erweiterung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der Leitstruktur ist deshalb hinsichtlich der Entwicklung eines möglichst affinen und selektiven potentiellen PET-Tracers notwendig. Es ist daher ein Synthesekonzept zur Darstellung von 6-Aminopurinderivaten auszuarbeiten, das eine einfache Variierung der Substituenten ermöglicht, um viele verschiedene Derivate darstellen zu können. Neben einer hohen Affinität sollen über die Derivatisierung auch pharmakologisch wichtige Eigenschaften wie die Lipophilie optimiert werden

Bei der Konzeption der Synthesen müssen zusätzlich die gängigen Verfahren zur schnellen trägerarmen Markierung mit PET-Nukliden beachtet werden. Dies beinhaltet nicht nur die Synthese von Fluor-, Iod- oder Methylgruppen enthaltenden potentiellen Liganden, sondern eine einfache Übertragung der Strategien auf notwendige Markierungsbedingungen. Da bei Radioliganden für die PET sehr hohe spezifische Aktivitäten notwendig sind, kommt zur Markierung mit Fluor-18 nur die nukleophile ¹⁸F-Fluorierung in Frage, die relativ einfach und in hohen Ausbeuten an Aliphaten mit geeigneten Abgangsgruppen durchzuführen ist. Zur schnellen elektrophilen Radioiodierung sind aktivierte Aromaten notwendig und die Einführung von Kohlenstoff-11 lässt sich durch ¹¹C-Methylierung erreichen. Aufwendige Schutzgruppenkonzepte sollen, wenn möglich, vermieden werden, um die Einführung der Radionuklide in einem letzten Reaktionsschritt zu erlauben.

Die Bestimmung der *in vitro* Bindungsparameter dieser Leitstrukturderivate stellt neben der Synthese einen weiteren wichtigen Aspekt dieser Arbeit dar. Anhand der ermittelten Bindungsdaten erfolgt die Auswahl von Liganden, die sich für eine trägerarme Markierung mit den jeweils erforderlichen Positronenemittern Fluor-18, Kohlenstoff-11 oder Iod-131 eignen, wobei letzteres als Substitut für die PET-Nuklide Iod-120 und Iod-124 verwendet wird. In der Ausarbeitung optimaler trägerarmer Markierungs- und Radiochromatographiebedingungen zur Isolierung der Tracer liegt ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit.

Die Evaluierung der synthetisierten Radioliganden umfaßt auch autoradiographische *in vitro* Studien an Rattenhirnen. Dabei sollen die Anreicherung im Zielgewebe und das Ausmaß der unspezifischen Bindung überprüft werden. Zeigen die synthetisierten Liganden in den *in vitro* Versuchen ein erforderliches pharmakologisches Verhalten, wäre die Möglichkeit gegeben, durch *ex vivo* Experimente weitere Parameter, wie die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke und die *in vivo* Stabilität zu untersuchen.

Kapitel 3

Ergebnisse und Diskussion

3.1 Auswahl einer Leitstruktur

Die meisten literaturbekannten A_{2A} -Adenosinrezeptor Antagonisten (A_{2A} AR Antagonisten) gehören strukturell zur Gruppe der Purine (7*H*-Purin, Abb. 3.1.1) [137, 138]. Als Leitstrukturen dienten neben Xanthin (3,7-Dihydropurin-2,6-dion) hauptsächlich das Aglykon des Adenosins, das Adenin (9*H*-Purin-6-ylamin), welches selbst schwach antagonistisch am A_{2A} AR wirksam ist [139].

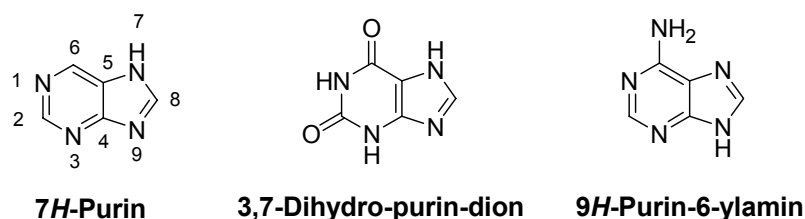


Abb. 3.1.1: Leitstrukturen der A_{2A} -Adenosinrezeptorantagonisten

Durch chemische Modifizierung des Purinheterozyklus und/oder Einführung von Substituenten konnte eine ganze Reihe affiner und selektiver Antagonisten für den A_{2A} AR erhalten werden [140]. In Abbildung 3.1.2 sind repräsentativ die Strukturen von zwei neueren Vertretern gezeigt, die des Xanthinderivats KF 17837 [141, 142] und die, der im Purinheterozyklus veränderten, trizyklischen Verbindung CGS 15943 [143, 144].

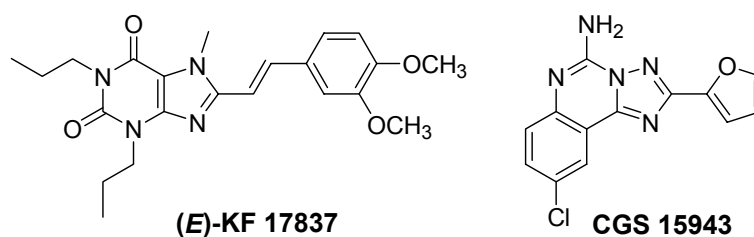


Abb. 3.1.2: Strukturen der A_{2A} AR Antagonisten KF 17837 und CGS 15943

Die Triazolchinazolin Struktur des CGS 15943 war die Basis zur Entwicklung weiterer hochaffiner, selektiver nicht-xanthinischer Liganden wie ZM 241385 [145] und SCH 58261 [146] (Abb. 3.1.3).

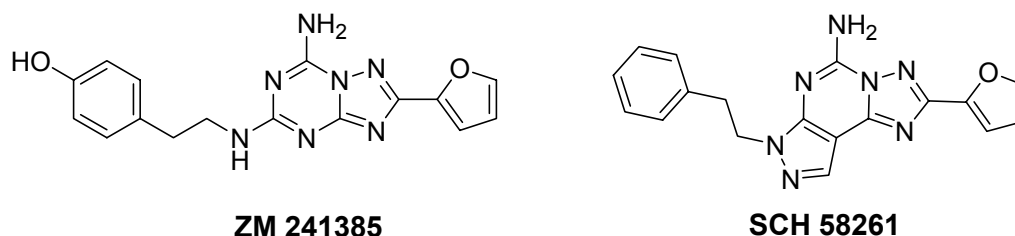


Abb. 3.1.3: Strukturen der A_{2A} AR Antagonisten ZM 241385 und SCH 58261

Die oben angeführten beschriebenen A_{2A} AR Antagonisten binden *in vitro* mit hoher Affinität und teilweise guter Selektivität an den Zielrezeptor. Die Bindungsdaten sind in Tabelle 3.1.1 aufgeführt.

Tabelle 3.1.1: Bindungsdaten einiger A_{2A} AR Antagonisten [aus 147]

	K_i A_1 AR [nM]	K_i A_{2A} AR [nM]	K_i A_3 AR [nM]	A_1/A_{2A} -Selektivität
(E)-KF 17837	62	1	300	60
CGS 15943	21	3,3	> 10000	6
ZM 241385	2040	0,4	> 15000	2900
SCH 58261	121	2,3	> 1000	50

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der bekannten A_{2A} AR Antagonisten mit einer Xanthingrundstruktur resultieren unter anderem in einer hohen Lipophilie und einer zu geringen Wasserlöslichkeit, was eine *in vivo* Anwendung aufgrund der niedrigen Bioverfügbarkeit stark einschränkt [148]. Durch Einführung polarer Gruppen an den aromatischen Substituenten der Xanthine konnte eine signifikante Veränderung der Lipophilie nur durch einen Verlust an Affinität und Selektivität erreicht werden [149, 150]. Neue Xanthinderivate sind daher, wie auch die Ergebnisse der Studien mit den markierten Derivaten [11 C]KF17837 [132], [11 C]CSC [133] und [11 C]KW6002 [136] zeigen, als Basis zur Entwicklung von PET-Tracern für die Hirndiagnostik wenig aussichtsreich.

Der potente A_{2A} AR Antagonist ZM 241385 weist einen relativ niedrigen logP-Wert von 2,16 auf [151], eine authentische Markierung des Liganden mit PET-Nukliden ist jedoch nicht möglich, da das Molekül keine geeigneten Funktionalitäten aufweist. Stu-

dien mit tritiiertem sowie einfach und zweifach radioiodiertem ZM 241385 zeigten in *in vitro* Autoradiographien zwar eine selektive Bindung im Striatum, *in vivo* jedoch eine zu hohe unspezifische Bindung und nur eine sehr geringe Überwindung der Blut-Hirn-Schranke. Eine Anwendung als Radiotracer ist daher nicht zu empfehlen [151].

Ein weiterer Ansatz zur Entwicklung von AR Antagonisten basiert auf der Beobachtung, dass eine intakte N9 Riboseeinheit (bis auf die 5'-Position) in Adenosinderivaten essentiell für eine agonistische Aktivität ist [152]. Adeninderivate sind daher als Antagonisten geeignet und bereits seit den Entwicklungen der ersten selektiven AR Antagonisten ist bekannt, dass eine N9-Alkylierung von Adeninen die Affinität zum AR unselektiv verbessert [153]. Durch den Vergleich der Bindungseigenschaften in den Positionen C2, N6 oder C8 jeweils gleich substituierter 9-Ethyladenine konnte gezeigt werden, dass durch eine C2-Substitution mit aromatischen Aminen hohe Affinitäten zum A_{2A}AR erreicht werden können [154, 155] (Abb. 3.1.4).

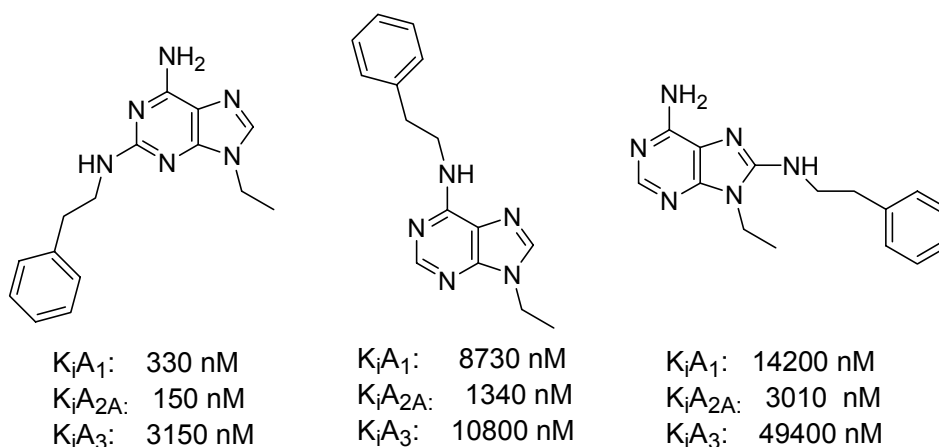


Abb. 3.1.4: Strukturen und Bindungsdaten C2, N6 oder C8 jeweils gleich substituierter 9-Ethyladenine [aus 154]

Durch Kombination der strukturellen Elemente von ZM 241385 und 9-Alkyl-2-amino-adeninen erhält man N²-, C8- und N9- substituierte 2,6-Diaminopurine (Abb. 3.1.5), die als potentielle A_{2A}AR Antagonisten in Frage kommen. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass in einer Patentschrift des europäischen Patentamtes [156] 8-Furyl substituierte und 9-alkylierte 2-Amino-adenine generell als AR Antagonisten geschützt sind. Eine Angabe der Bindungsparameter der synthetisierten Verbindungen findet sich in der Patentschrift jedoch nicht.

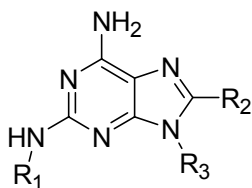


Abb. 3.1.5: N²-, C8- und N9-substituierte 2,6-Diaminopurine als Basis der Entwicklung neuer, für die PET geeigneter A_{2A}AR Antagonisten

N²-, C8- und N9-substituierte 2,6-Diaminopurine erlauben aufgrund der drei unterschiedlichen Reste viele Variationsmöglichkeiten wodurch das Struktur-Affinitätsprofil zum A_{2A}AR erweitert werden kann und Standardverbindungen für potentielle Radiotracer erhalten werden können.

3.2 Synthese potentieller Liganden

Zur Darstellung von Purinen bestehen prinzipiell zwei Synthesekonzepte, die auf Traube zurückgehende Kondensation von 5,6-Diaminopyrimidinen und Carbonsäurederivaten [157] sowie die Zyklisierung geeigneter Imidazolderivate [158] (Abb. 3.2.1).

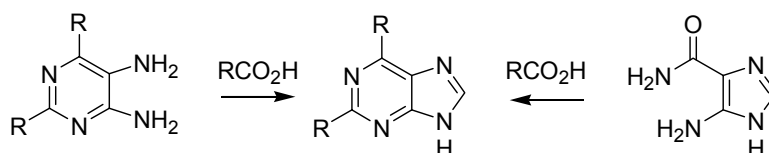


Abb. 3.2.1: Synthesekonzepte zur Darstellung von Purinen

Die Synthese von 2,6-Diaminopurin wurde demnach erstmals auch über eine, der Traube Purinsynthese analogen, Reaktion von 2,4,5,6-Tetraaminopyrimidin mit Formamid und Ameisensäure durchgeführt [159]. Eine selektive Alkylierung des N²-Amins zu N² substituierten Adeninen ist wegen der unterschiedlichen Reaktivitäten der drei Aminofunktionen N², N⁶ und N9 nicht möglich [160].

Die ersten Synthesen von N²-, N⁶-substituierten 2,6-Diaminopurinen erfolgten durch Substitutionen am Purinheterozyklus. Die Umsetzung von Xanthinen mit tertiären Aminen in Phosphoroxchlorid zur Darstellung an N² und N⁶ gleich substituierten

2,6-Diaminopurinen beschrieben 1952 erstmals Robins und Christensen [161]. Ausgehend von 2,6-Dichlorpurinen wurden von Montgomery *et al.* [162, 163] unter Ausnutzung der unterschiedlichen Reaktivitäten der beiden Chloratome, verschieden alkylierte 2,6-Diaminopurine sowie 2-Alkylaminoadenine unter ähnlichen drastischen (hoher Druck, Temperatur) Reaktionsbedingungen synthetisiert.

Die Synthese 2-substituierter Adenine unter milderen Reaktionsbedingungen gelingt ausgehend von der von Taylor und Mitarbeitern [164] entwickelten Darstellung 2-substituierter 4,6-Diamino-5-nitrosopyrimidine. Diese können durch Erhitzen von Isonitrosomalononitril Amidinsalzen in Methanol erhalten werden, anschließend in einer Eintopfreaktion nach Brederick und Edenhofer [165] mit Natriumdithionit zum Triaminopyrimidin reduziert und mit Formamid in Ameisensäure zum Adenin kondensiert werden (Abb. 3.2.2).

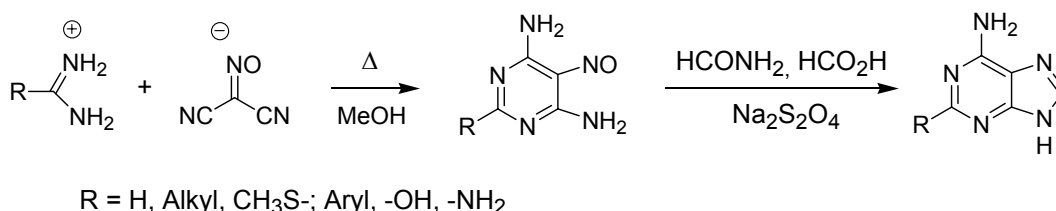


Abb. 3.2.2: Darstellung von 2-substituierten Adeninen nach Taylor *et al* [164]

Die Synthese von 2-Amino substituierten Guanin- und 2-Alkylamino-pteridinderivaten gelingt durch Austausch einer 2-Methylmercaptofunktion mit primären Aminen an 6-Hydroxypurinen oder 4-Hydroxypyrimidinen [166, 167] (Abb. 3.2.3). Die Methylmercaptofunktion eignet sich demnach als Abgangsgruppe zur 2-Aminierung von Pyrimidin- und Purinheterozyklen.

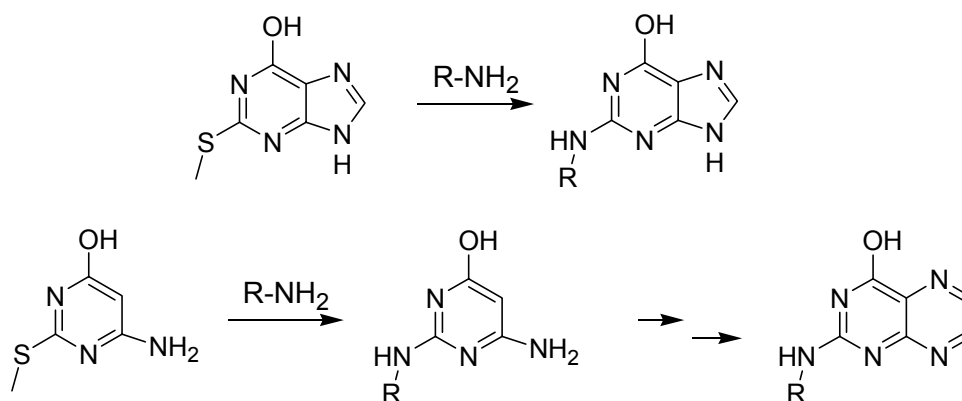


Abb. 3.2.3: Die Methylmercaptofunktion als geeignete Abgangsgruppe zur 2-Aminierung von Pyrimidin- und Purinheterozyklen

Zur Synthese der potentiellen A_{2A}AR Antagonisten wurden, basierend auf den bisher ausgeführten Überlegungen, zwei Strategien aufgestellt, die in Abbildung 3.2.4 dargestellt sind.

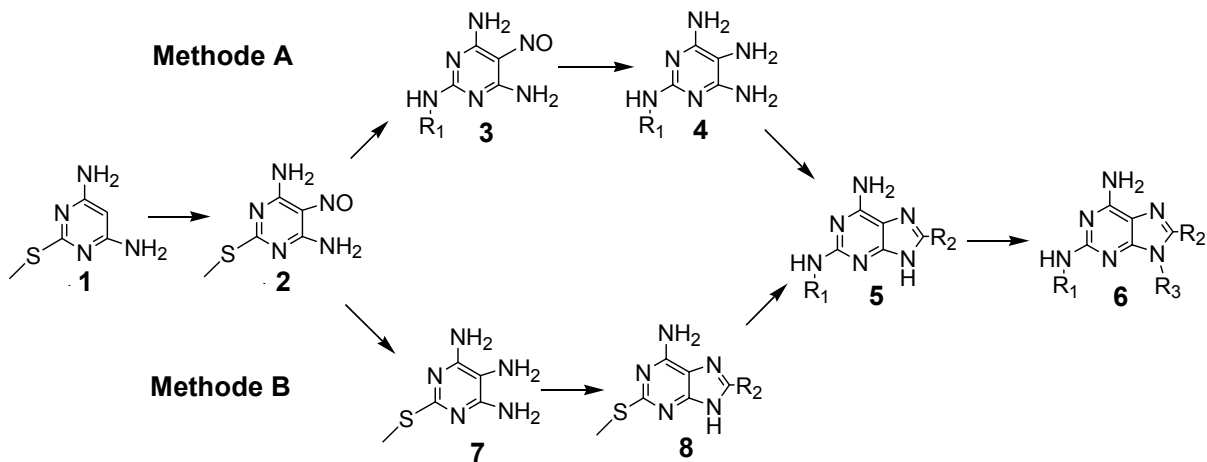


Abb. 3.2.4: Methoden zur Synthese N², C8 und N9 substituierter 2,6-Diaminopurine

Beide Methoden gehen von 4,6-Diamino-2-methylmercapto-5-nitrosopyrimidin (**2**) aus. Methode A und B unterscheiden sich hinsichtlich der 2-Aminierung, die in Methode A durch Substitution der Methylmercaptogruppe des Nitrosopyrimidins und in Methode B erst am Purinheterozyklus erfolgt.

Bei der Auswahl der Substituenten R₁, R₂ und R₃ wurde hauptsächlich das Struktur-Aktivitäts-Profil bekannter Antagonisten berücksichtigt, wobei zusätzlich darauf geachtet wurde, markierbare und möglichst wasserlösliche substituierte 2,6-Diaminopurine zu erhalten. Als Substituenten R₁ wurden 2-(4-Methoxyphenyl)-ethyl- und 2-(4-Hydroxyphenyl)-ethylreste eingeführt. Diese Gruppen haben sich bei den Bestimmungen der AR Affinitäten von Derivaten des Triazolopyrimidins (SCH 58261) als besonders günstig für eine A_{2A}AR Selektivität erwiesen [168]. 2-(4-Hydroxyphenyl)-ethyl ermöglicht außerdem die elektrophile Iodierung des aktivierten Aromaten, wodurch Standardverbindungen für potentielle Radioiodtracer zugänglich werden.

Neben der Synthese von in Position 8 unsubstituierten Verbindungen erfolgte die Einführung der bereits in der oben zitierten Patentschrift erwähnten und bei ZM 241385 ebenfalls vorhandenen 2-Furylgruppe sowie die von KF 17837 bekannte Styrylgruppe als Substituent R₃. Wegen der, im Vergleich zu anderen 2-unsubstituierten Adeninderivaten,

sehr hohen A_{2A}AR Affinität von 9-Ethyl-8-bromadenin ($K_i = 52 \text{ nM}$) [154] war die Darstellung C8 bromierter 2,6-Diaminopurine ebenfalls interessant.

Die Alkylierung des N9-Amins mit Methyl-, 2-Fluorethyl-, 3-Fluorpropyl- und 2-Hydroxyethylgruppen komplettiert das Variationsmuster der Substituenten zur Untersuchung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen. Auf diese Weise können Fluor enthaltende Liganden synthetisiert werden, die Standardverbindungen potentieller ¹⁸F-markierter PET-Tracer sind.

2-Methylsulfanylpurimidin-4,6-diamin (**1**) war die Ausgangssubstanz für alle hergestellten 2,6-Diaminopurinderivate und wurde durch Methylierung des kommerziell erhältlichen 4,6-Diamino-2-mercaptopyrimidins erhalten. Nitrosierung von **1** mit Natriumnitrit in Essigsäure lieferte 4,6-Diamino-2-methylmercapto-5-nitrosopyrimidin (**2**) das zunächst über den Weg A zu den N²-, N9 und C8 verschieden substituierten 2,6-Diaminopurinen **6** umgesetzt wurde.

Die Substitution der Methylmercaptofunktion des Nitrosopyrimidins **2** mit 2-(4-Methoxyphenyl)ethylamin in einem Wasser/Methanol-Gemisch zu 4,6-Diamino-2-(2-(4-methoxyphenyl)ethylamin)-5-nitrosopyrimidin (**3**) ergab Ausbeuten von über 80 %. Das zur Darstellung von Purinen nach Traube benötigte 5,6-Diaminopyrimidin wurde durch Reduktion der Nitrosogruppe mit Natriumdithionit zum entsprechenden 4,5,6-Triamino-2-(2-(4-methoxyphenyl)ethylamin)-pyrimidin (**4**) erhalten.

Das in Position 8 unsubstituierte Purin **5c** konnte leicht mit über 90 % Ausbeute durch Erhitzen des Triamins **4** in Formaldehyd synthetisiert werden [169]. Der Versuch Verbindung **4** mit Carbonsäurechloriden zu 8-substituierten Purinen zu kondensieren schlug jedoch fehl. Es konnte nur eine Amidbildung mit der 5-Aminofunktion des Pyrimidins beobachtet werden. Stattdessen wurden die bereits von Bredereck [170] zur Darstellung substituierter Imidazole verwendeten Pinner-Reagentien (Iminoester oder Imidate [171]) als reaktivere Säurederivate verwendet (Abb. 3.2.5).

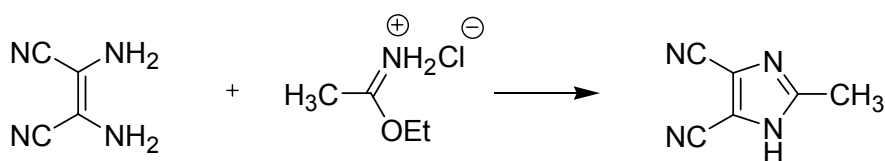


Abb. 3.2.5: Imidate als reaktive Carbonsäurederivate zur Darstellung von Imidazolen [170]

Die Darstellung der Imidate gelang in hohen Ausbeuten (> 82 %) nach Pinner durch Kondensation von Nitrilen und Ethanol unter wasserfreien Bedingungen mit Hydrogenchlorid [172].

Durch die Umsetzung von **4** mit verschiedenen Iminioestern in Pyridin im Rückfluss und unter Zugabe von DMAP konnte die Kondensation zu den Purinen erreicht werden. Nach säulenchromatographischer Aufarbeitung wurde so durch Verwendung von 2-Furancarbonsäureethylesterimid Hydrochlorid 6-Amino-8-(2-furyl)-2-[4-methoxyphenyl]-ethyl-amino-1H-purin (**5a**) mit fast 50 % und mit trans-Zimtsäureethylesterimid Hydrochlorid das entsprechend 8-Styryl substituierte Purin **5b** in mehr als 80 % Ausbeute erhalten.

Nachfolgende Alkylierungen des N9-Amins der Purine **5a-c** in DMF mit Methyljodid, 2-Bromethanol, 1-Brom-2-fluorethan und 1-Brom-3-fluorpropan mit K_2CO_3 als Base ergaben schließlich die substituierten Purinderivate **6a-g** in Ausbeuten von über 80 % [173]. Eine Alkylierung der beiden Aminogruppen N^2 und N^6 des Purins ist hierbei aufgrund der unterschiedlichen Reaktivitäten nicht zu beobachten [160].

Methode A ist demnach zur Synthese N^2 , C8 und N9 substituerter 2,6-Diaminopurine geeignet. Die Purine wurden dabei in Ausbeuten zwischen 22 und 55 % bezogen auf das Nitrosopyrimidin **2** erhalten (Tab. 3.2.1).

Bei dem alternativen Syntheseweg B erfolgte die Reduktion des Nitrosopyrimidins **2** mit Natriumdithionit zum 2-Mercapto-4,5,6-triaminopyrimidin (**7**) bevor der Substituent in Position 2 eingeführt wurde. Es zeigte sich, dass der Ringschluss zu dem Purinderivat **8** ausgehend von **7** mit 2-Furancarbonsäureethylesterimid in höheren Ausbeuten (68 %) und vor allem weniger Nebenprodukten verläuft als mit 2-[2-(4-Methoxyphenyl)-ethyl]amino-4,5,6-triamino-pyrimidin (**4**) als Ausgangssubstanz, so dass eine aufwendige Reinigung und Abtrennung des Produktes entfiel. Nach dem Ringschluss zu den Purinen ist es im Gegensatz zu den Pyrimidinen jedoch nicht mehr möglich, die Methylsulfonylgruppe in Position 2 direkt mit 2-(4-Methoxyphenyl)ethylamin zu substituieren.

Von Alkylsulfin- und Alkylsulfonsubstituenten ist bekannt, dass sie als Austrittsgruppen bei nukleophilen Substitutionen an elektronenarmen Heterozyklen gut geeignet sind [174, 175]. Die zur Darstellung dieser Abgangsgruppe notwendige Oxidation der Methylmercaptofunktion mit 3-Chlorperoxybenzoesäure (MCPBA) in Dichlormethan ergab nach 5 Tagen Reaktionsdauer Ausbeuten zwischen 75 und 85 %. Hierbei machte es

keinen Unterschied, ob vor (Oxidation von **8** zu **9**) oder erst nach der Fluoralkylierung von N9 (Oxidation von **10a,b** zu **11a,b**) oxidiert wurde (Abb. 3.2.6).

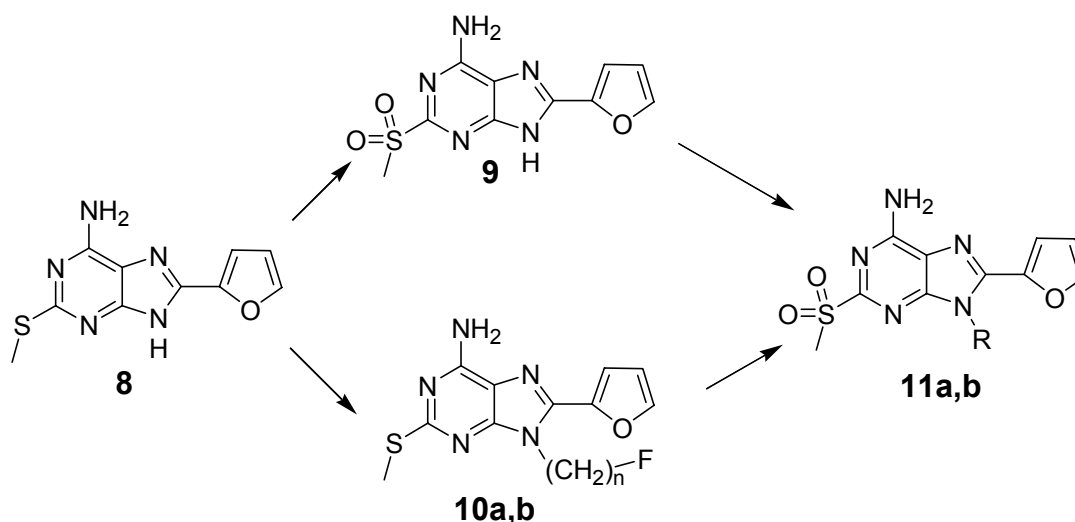


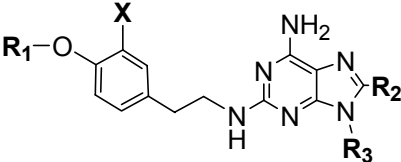
Abb. 3.2.6: Aktivierung der Purin 2-Position gegenüber einem nukleophilen Angriff durch Oxidation der Mercaptofunktion zum Sulfon mit MCPBA

Trotz der Umwandlung zu den Sulfonen war eine Substitution der Purine **9** und **11a,b** nur bei hoher Temperatur ($> 130\text{ }^{\circ}\text{C}$) und hohem Überschuss an Amin mit Ausbeuten von maximal 20 % möglich.

Durch den zusätzlichen Reaktionsschritt ergaben sich für Methode B Gesamtausbeuten an 2,6-Diaminopurinen zwischen 3 und 6 % (Tab. 3.2.1). Methode A empfiehlt sich daher, trotz des aufwendigeren Ringschlusses, als bessere Methode zur Darstellung der substituierten Purine, obwohl Methode B ebenfalls einen prinzipiell möglichen Weg darstellt. Methode B könnte insbesondere für Substituenten R_1 interessant sein, die unter den basischen Bedingungen des Ringschlusses oder der Reduktion zum Triamin nicht stabil sind.

Weitere potentielle Liganden konnten durch Derivatisierung der über Methode A und B hergestellten Purine synthetisiert werden. Die selektive Bromierung von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-9H-purin (**5c**) in Position 8 wurde mit N-Bromsuccinimid in DMF erreicht. Dabei wurde 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]-amino-8-bromo-9-(2-fluorethyl)-purin (**6j**) mit Ausbeuten über 95 % erhalten [154].

Tabelle 3.2.1: Struktur und Ausbeuten neu synthetisierter 2,6-Diaminopurine

					Gesamtausbeute [%] bezogen auf 2 als Ausgangsverbindung	
Nr.	X	R ₁	R ₂	R ₃	A	B
5a	H	Methyl	2-Furyl	H	29	5
5b	H	Methyl	Styryl	H	49	-
5c	H	Methyl	H	H	55	-
6a	H	Methyl	2-Furyl	Methyl	25	-
6b	H	Methyl	Styryl	Methyl	44	-
6c	H	Methyl	2-Furyl	2-Hydroxyethyl	22	3
6d	H	Methyl	2-Furyl	2-Fluorethyl	28	6
6e	H	Methyl	Styryl	2-Fluorethyl	45	-
6f	H	Methyl	H	2-Fluorethyl	44	-
6g	H	Methyl	2-Furyl	3-Fluorpropyl	26	5
6h	H	H	2-Furyl	2-Fluorethyl	17	-
6i	I	H	2-Furyl	2-Fluorethyl	8	-
6j	H	Methyl	Brom	2-Fluorethyl	42	-

Eine weitere Derivatisierung wurde durch die Spaltung der Methylethergruppe des Substituenten R₁ von **6d** zum entsprechenden Tyraminderivat **6h** erreicht. Diese Reaktion gelang nach der Standardmethode mit Bortribromid [176, 177] mit einer Ausbeute von 61 %. Durch die Etherspaltung wurde zum einen eine Erhöhung der Polarität und zum anderen eine Aktivierung des Aromaten für einen elektrophilen Angriff in ortho-Position der Hydroxyfunktion erreicht. Die Synthese eines iodierten Purinderivats **6i** durch ortho-Substitution mit elementarem Iod bei einer Temperatur von 0 °C war daher möglich. Bei Einsatz äquimolarer Eduktmengen waren nach 15 Minuten noch ca. 30 % **6h** nachweisbar, wobei als Produkte sowohl der monoiodierte als auch der diiodierte Aromat im Verhältnis 70/30 entstanden sind. Längere Reaktionszeiten verschlechterten die Ausbeute an monoiodiertem Purin. Die erste Iodierung hat den Aromaten offensichtlich gegenüber einem weiteren elektrophilen Angriff aktiviert. Dieselbe Beobachtung wurde bei der elektrophilen Iodierung von α -D,L-Methyltyrosin gemacht [178] und scheint daher typisch für in ortho-Position iodierte Phenolderivate zu sein. Eine Erklärungsmög-

lichkeit wäre die Annahme, dass durch das benachbarte Iodatom die O-H-Bindung partiell gelockert wird, wodurch der aktivierende Effekt der Hydroxyfunktion zunimmt.

Die von den 8-Styrylxanthinen beschriebene schnelle Photoisomerisierung der (E)-ständigen Doppelbindung [129] konnte bei den neu synthetisierten 8-Styryl-2,6-diaminopurinen nicht beobachtet werden. Die HH-Kopplungskonstante lag immer zwischen 15,9 und 16,5 Hz ((E)-KF17837 J_{HH} = 15,8 Hz); bei einer (Z)-Kopplung würde ein niedrigere Kopplungskonstante resultieren ((Z)-KF17837 J_{HH} = 12,7 Hz).

Alle dargestellten potentiellen Liganden wurden sowohl NMR- als auch Massenspektroskopisch (MS und HRMS) nachgewiesen und ihre Reinheit über HPL-Chromatographie bestätigt. Tabelle 3.1.2 zeigt die verschiedenen synthetisierten potentiellen Liganden mit den Ausbeuten je nach Syntheseweg.

3.3 Evaluierung der neuen Verbindungen

Liganden, die in radioaktiv markierter Form als PET-Tracer zur Darstellung von Hirnfunktionen dienen sollen, müssen verschiedenste Voraussetzungen erfüllen. Die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke (BHS), hinreichende metabolische Stabilität, das Ausmaß der unspezifischen Bindung und die Rezeptorbindung (Affinitäten und Selektivitäten) sind einige davon [179]. Bis auf die Bindungseigenschaften können diese Parameter, nur über *in vivo* bzw. *ex vivo* Studien exakt bestimmt werden, da es keine geeigneten *in vitro* Experimente gibt, diese auf anderem Wege zu erfassen. In einer Reihe strukturell ähnlicher Liganden lässt sich jedoch feststellen, dass mit zunehmender Lipophilie der Moleküle die unspezifische Wechselwirkung mit dem Gewebe zunimmt [180]. Gleichzeitig ist aber für eine Durchdringung der BHS eine gewisse Lipophilie notwendig [181], so dass nur ein schmales optimales „Lipophilie-Fenster“ bleibt, in dem wenig unspezifische Bindung auftritt, jedoch eine hohe Verfügbarkeit des Liganden im Gehirn besteht [182]. Ein häufig verwendeter Parameter zur Beurteilung von potentiell für *in vivo* Anwendungen geeigneter Liganden ist daher der Verteilungskoeffizient zwischen Wasser und Octanol (logP-Wert). Der logP-Wert eines Liganden sollte für eine Überschreitung der BHS im Bereich zwischen 2 und 2,5 liegen. Wie der Ligand ZM 241385 zeigt, der zwar

einen optimalen logP-Wert von 2,16 aufweist die BHS jedoch nicht überwindet, ist die Polarität jedoch kein allein bestimmendes Kriterium [151].

Die Affinität und Selektivität der Liganden kann *in vitro* durch Rezeptor-Ligand-Studien bestimmt werden. Die minimal erforderliche Affinität eines Radioliganden hängt von der Rezeptordichte in der Zielregion ab, je höher die Rezeptordichte und je exklusiver dieser Rezeptor in der jeweiligen Zielregion vorkommt umso niedrigere Affinitäten reichen zur selektiven Darstellung der Zielregion in der PET. Ähnliches gilt für die Selektivität, eine niedrige Subtypselektivität ist meist akzeptabel, wenn der Zielrezeptor anatomisch getrennt von anderen Subtypen vorliegt. Der A_{2A}AR kommt im Gehirn fast ausschließlich und in höheren Dichten im Striatum vor [183]. Eine extrem hohe Affinität potentieller A_{2A}AR Radioliganden ist daher nicht unbedingt notwendig. Da A₁AR, obwohl in geringerer Dichte als A_{2A}AR, ebenfalls im Striatum vorhanden sind, ist eine ausgeprägte Selektivität unter Umständen entscheidender.

Generell lässt sich zusammenfassen, dass es keinen idealen Liganden gibt, der alle Kriterien optimal erfüllt. Das Zusammenspiel der verschiedenen Eigenschaften gibt den Ausschlag für eine *in vivo* Verwendung, weshalb eine Evaluierung jedes Liganden notwendig ist.

Zur *in vitro* Evaluierung der dargestellten 2,6-Diaminopurine **5a-c** und **6a-k** wurden die Affinitäten dieser Verbindungen an A₁- und A_{2A}-Adenosinrezeptoren in Gewebs-homogenaten von Schweinehirnen ermittelt. Zusätzlich wurden die logP-Werte berechnet (ClogP).

Die Messung der Affinitäten erfolgte durch Verdrängungsstudien mit Radioliganden an Membranpräparationen des Striatums und frontalen Cortex aus Schweinehirnen. Der A₁-selektiv Antagonist [³H]CPFPX (K_D = 0,18 nM) [124] wurde zur Bestimmung der A₁AR Affinität und der A_{2A}-selektive Agonist [³H]CGS21680 (K_D = 27 nM) [184] zur Bestimmung der A_{2A}AR Affinität genutzt.

Die Berechnung der logP-Werte erfolgte rechnergestützt nach einem Verfahren von Leo und Hansch; nähere Informationen finden sich in [185]. Da die berechneten Werte für fast alle Verbindungen relativ groß sind (> 3), wurden zunächst die Löslichkeiten der Liganden in Wasser untersucht.

Die Bestimmung der Wasserlöslichkeiten erfolgte über eine HPLC/UV-Methode [115, 186]. Dazu wurden bekannte Konzentrationen der Liganden (1 mg/ml) in DMSO

hergestellt und mit Puffer verdünnt, so dass gesättigte 1 % DMSO enthaltende, wässrige Lösungen erhalten werden. Durch Vergleich der Flächenintegrale des UV-Signals der HPLC Trennung kann so die Löslichkeit ermittelt werden.

Da die errechneten logP-Werte größer 3 sind und somit nur 1/1000 der eingesetzten Verbindung in der Wasserphase verbleibt, die Wasserlöslichkeiten jedoch im niedrigen mikromolaren Bereich liegen, ist eine experimentelle logP Bestimmung aufgrund der Nachweisgrenze schlecht oder gar nicht möglich.

Eine Auflistung der gewonnenen Daten findet sich in Tabelle 3.3.1.

Tabelle 3.3.1: Adenosinrezeptor Affinitäten und Wasserlöslichkeiten neu synthetisierter 2,6-Diaminopurine

	Ki [nM]		Selektivität	ClogP	Wasserlöslichkeit [nM]	Verhältnis Löslichkeit/ A _{2A} -Affinität
	A ₁	A _{2A}	A ₁ /A _{2A}			
5a	12570	201	62,5	4,25	8820	43,9
5b	> 300	664	> 0,45	5,46	310	0,5
5c	11670	2366	5	2,76	15140	6,4
6a	25120	25	1005	4,00	4170	166,8
6b	> 700	1295	> 0,55	5,21	730	0,6
6c	5451	21	260	3,17	7300	347,6
6d	2219	26	85	4,25	1690	65
6e	> 50	436	> 0,1	5,46	30	0,1
6f	> 6000	250	> 24	2,77	10850	43,4
6g	> 100	797	> 0,12	4,48	80	0,1
6h	7266	25	291	3,66	7320	292,8
6i	> 100	21	> 5	4,73	50	2,4
6j	> 100	72	> 1,4	3,63	730	10,1

Bei der Bestimmung der Affinitäten zum A₁AR konnte bei mehr als der Hälfte der dargestellten Verbindungen innerhalb der untersuchten Konzentrationsbereiche keinerlei Verdrängung des Radioliganden [³H]CPFPX beobachtet werden. So wurde zum Beispiel bei der Bindungsstudie von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-bromo-9-(2-fluorethyl)-purin (**6k**) das in Abbildung 3.3.1 dargestellte Ergebnis erhalten.

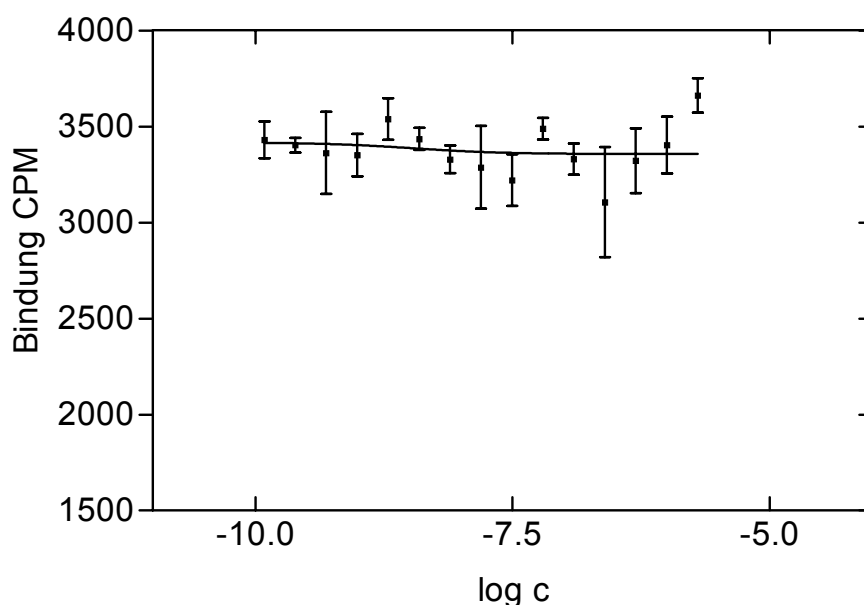


Abb. 3.3.1: Versuch der Bestimmung des K_i -Wertes von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-bromo-9-(2-fluorethyl)-purin (**6j**) am A_1 -Adenosinrezeptor

Man erkennt deutlich, dass in dem verwendeten Konzentrationsintervall keine Verdrängung stattfindet und somit kein IC_{50} -Wert bestimmbar ist. Eine Erhöhung der Ligandenkonzentration ist wegen der zu geringen Löslichkeiten nicht möglich. In diesen Fällen wurde daher über die Cheng-Prusoff-Gleichung [95] ein unterer Grenzwert des K_i -Wertes berechnet.

Beispielhaft ergibt sich für **6j** unter der Annahme, dass die durch die Löslichkeit gegebene, maximale Konzentration des Liganden kleiner als der IC_{50} -Wert ist, folgender Zusammenhang:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{c(\text{Radioligand})}{K_D}} \Rightarrow K_i > \frac{\text{Löslichkeit [nM]}}{1 + \frac{c(\text{Radioligand}) [\text{nM}]}{K_D(\text{Radioligand}) [\text{nM}]}} = \frac{690}{1 + \frac{4,06}{0,618}} \approx 91 \text{ nM}$$

Die Verdrängung von [^3H]CGS21680 an A_{2A} AR konnte in den Konzentrationsbereichen im Gegensatz zu den A_1 AR jeweils bis zur Sättigung erfolgen, so dass in diesen Fällen die IC_{50} - und K_i -Werte genau angegeben werden können. In Abbildung 3.3.2 ist am Beispiel der Verdrängung von [^3H]CGS21680 durch 9-(2-Fluorethyl)-8-furan-2-yl- N^2 -[2-(4-methoxy-phenyl)-ethyl]-9H-purin-2,6-diamin (**6d**) das Ergebnis einer Rezeptorbin-

dungsstudie zur Bestimmung der Affinität am A_{2A}-Adenosinrezeptor aufgezeigt, aus der sich ein K_i-Wert von 26 nM ergibt.

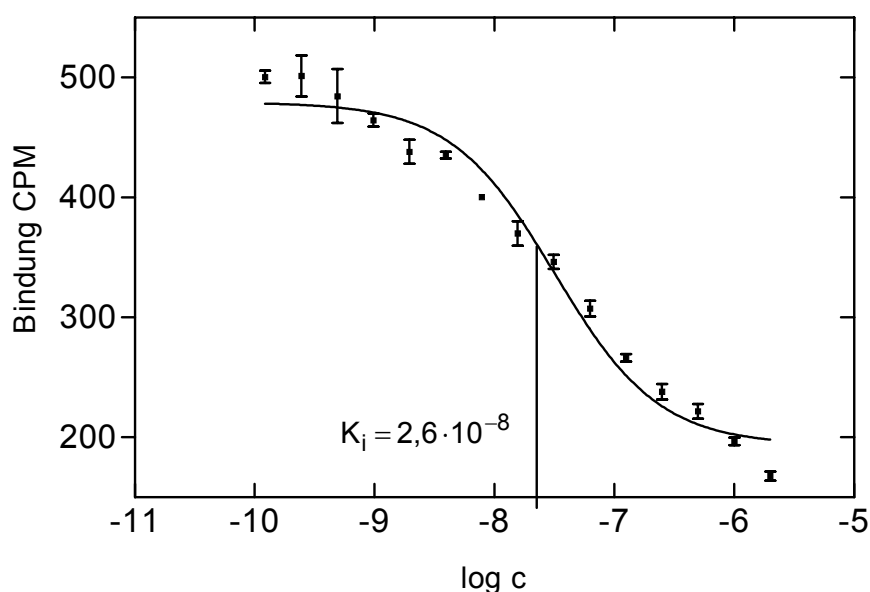


Abb. 3.3.2: Bestimmung des K_i-Wertes von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin (**6d**) am A_{2A}AR

Durch Variation der N²-, N9 und C8 Substituenten von 2,6-Diaminopurinen konnten Verbindungen erhalten werden, die im allgemeinen K_i-Werte am A_{2A}AR besitzen, die deutlich kleiner als 1 µM und selektiver gegenüber A_{2A}- als gegen A₁AR sind. Die durch Einführung einer 2-Furylgruppe in Position 8 erhaltenen Liganden zeigen die höchsten A_{2A}AR Affinitäten (21 – 201 nM). Sie sind etwa 10mal höher als die in dieser Position unsubstituierten (250 – 2366 nM) und 8-styryl substituierten (436 – 1295 nM) Verbindungen (Abb.3.3.3).

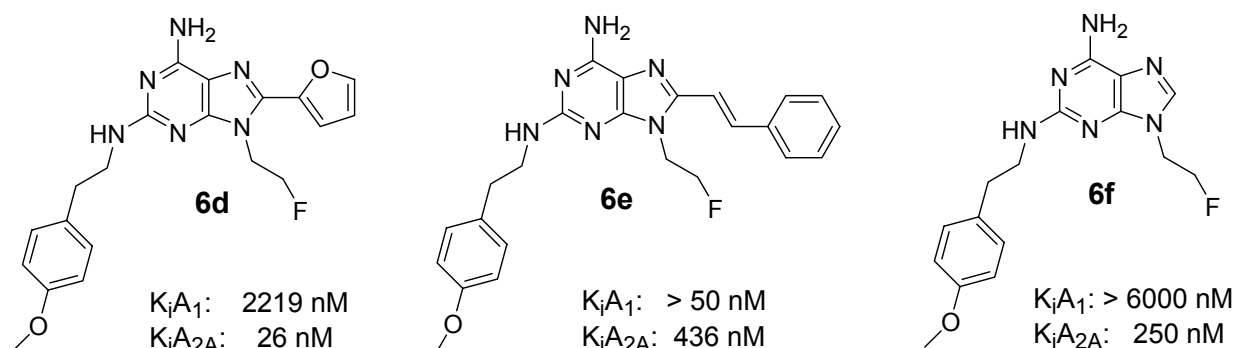


Abb. 3.3.3: Einfluss des Substituenten in der Purin C8 Position auf das Bindungsverhalten am A_{2A}-Adenosinrezeptor

Für eine optimale Bindung N^2 aromatisch substituierter 2,6-Diaminopurine zum A_{2A} AR ist demnach eine Substitution der C8 Position besser im Vergleich zu C8 unsubstituierten Derivaten. Wie die Affinitäten der 8-Styryl substituierten Verbindungen zeigen, darf dieser Substituent jedoch sterisch nicht zu anspruchsvoll sein. Dies entspricht der Theorie einer einzelnen hydrophoben „binding-pocket“ des Rezeptors, die Baraldi und Mitarbeiter bei den Struktur-Affinitäts-Studien von Derivaten des Pyrazolo-triazolo-pyrimidin Heterozyklus aufgestellt haben [187].

Die A_{2A} AR-Affinität von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-bromo-9-(2-fluorethyl)-purin (**6j**) als Beispiel für ein 8-bromiertes 2,6-Diaminopurin ist im Vergleich zur entsprechenden 8-furylierten Verbindung **6d** etwa dreimal niedriger. Interessant ist in diesem Zusammenhang ein Vergleich mit dem von Camaioni und Mitarbeitern untersuchten 8-Brom-9-ethyladenin [154] (Abb. 3.3.4).

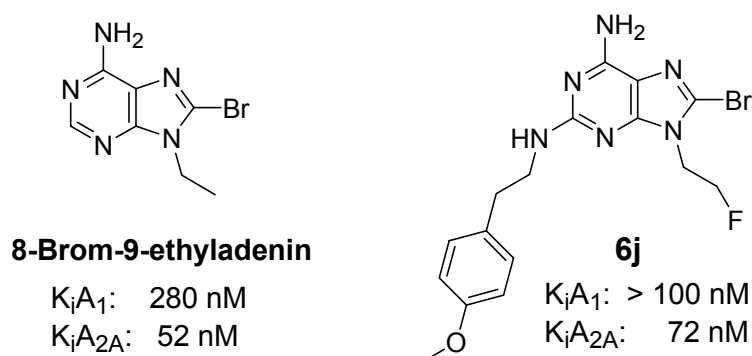


Abb. 3.3.4: Vergleich der Affinitäten von 8-Brom-9-ethyladenin und 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-bromo-9-(2-fluorethyl)-purin (**6j**)

8-Brom-9-ethyladenin bindet geringfügig affiner an den A_{2A} AR als **6j** obwohl gewöhnlich N^2 aromatisch substituierte 2,6-Diaminopurine wesentlich höhere Affinitäten aufweisen als in Position 2 unsubstituierte Adenine [154]. Eine mögliche Erklärung für dieses Verhalten ist, dass bei 8-Brom-9-ethyladenin das Bromatom die hydrophobe „binding-pocket“ des Rezeptors ausfüllt, dass also eine andere Orientierung der Purin-grundstruktur zum Rezeptor vorliegt als die der N^2 aromatisch substituierten 2,6-Diaminopurine. Wird bei dem Liganden **6j** dieselbe Orientierung wie bei den anderen 2,6-Diaminopurinen angenommen, so entspricht das Bromatom nicht der optimalen Größe des C8 Substituenten, woraus ein schlechteres Bindungsverhalten resultiert.

In Übereinstimmung mit vorherigen Studien ergab die Alkylierung der N9-Position eine Verbesserung der Affinität und Selektivität zum A_{2A}AR [188]. Die Methylierung von **5a** zu 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-methyl-purin (**6a**) verbesserte die Affinität um mehr als das 5-fache und die Selektivität um den Faktor 10. **6a** ist damit das selektivste (etwa Faktor 1000) der in dieser Arbeit synthetisierten 2,6-Diaminopurine mit einer Affinität von 25 nM. Eine 2-Fluorethylierung oder 2-Hydroxyethylisierung des N9-Amins ergeben ähnliche Affinitäten wie eine Methylierung; die Selektivität ist im Vergleich jedoch leicht verringert. Die Affinität an A_{2A}AR des 9-Hydroxyethylpurins **6c** ist mehr als 250 und die des 9-fluorethylierten Purins **6d** annähernd 100-mal höher gegenüber A₁-Adenosinrezeptoren. Wird dagegen ein längerer Alkylrest wie z.B. eine 3-Fluorpropylgruppe eingeführt, so sinken Affinität und Selektivität erheblich. Verglichen mit den Liganden **6a,c,d** ergeben sich für **6g** ($K_i = 797$ nM) etwa um den Faktor 10 und sogar im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung **5a** um den Faktor 4 schlechtere Affinitäten (Abb. 3.3.5).

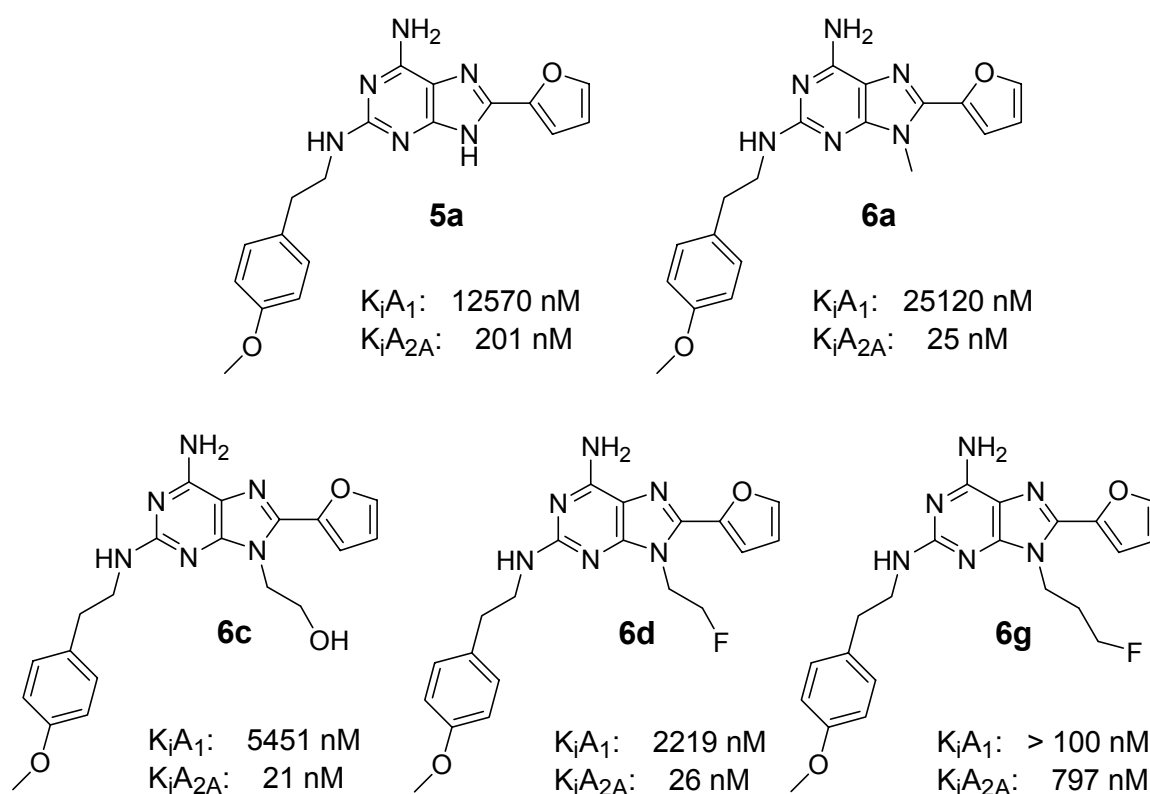


Abb. 3.3.5: Einfluss des Substituenten an N9 auf das Bindungsverhalten am A_{2A}-Adenosinrezeptor

Variationen der aromatischen Substituenten der Phenylethylgruppe an Position 2 der Leitstruktur ergaben keine signifikanten Auswirkungen auf die Affinitäten zum A_{2A}AR. Wie aus den Bindungsdaten des Phenolderivats **6h** ($K_i = 25$ nM, 291fache Selektivität) zu ersehen ist, verringerte sich jedoch bei der Spaltung der 4-Methoxygruppe die Affinität zum A₁AR, so dass dadurch eine Verbesserung der Selektivität um annähernd das vierfache erreicht werden kann. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von Baraldi et al., die bei Versuchen zur Entwicklung von PET-Radiotracer auf Basis der Pyrazolo-triazolo-pyrimidine durch Methylierung der phenolischen Hydroxyfunktion (SCH 442416) eine enorme Verbesserung der Affinität und Selektivität erreichten [135] (Abb. 3.3.6).

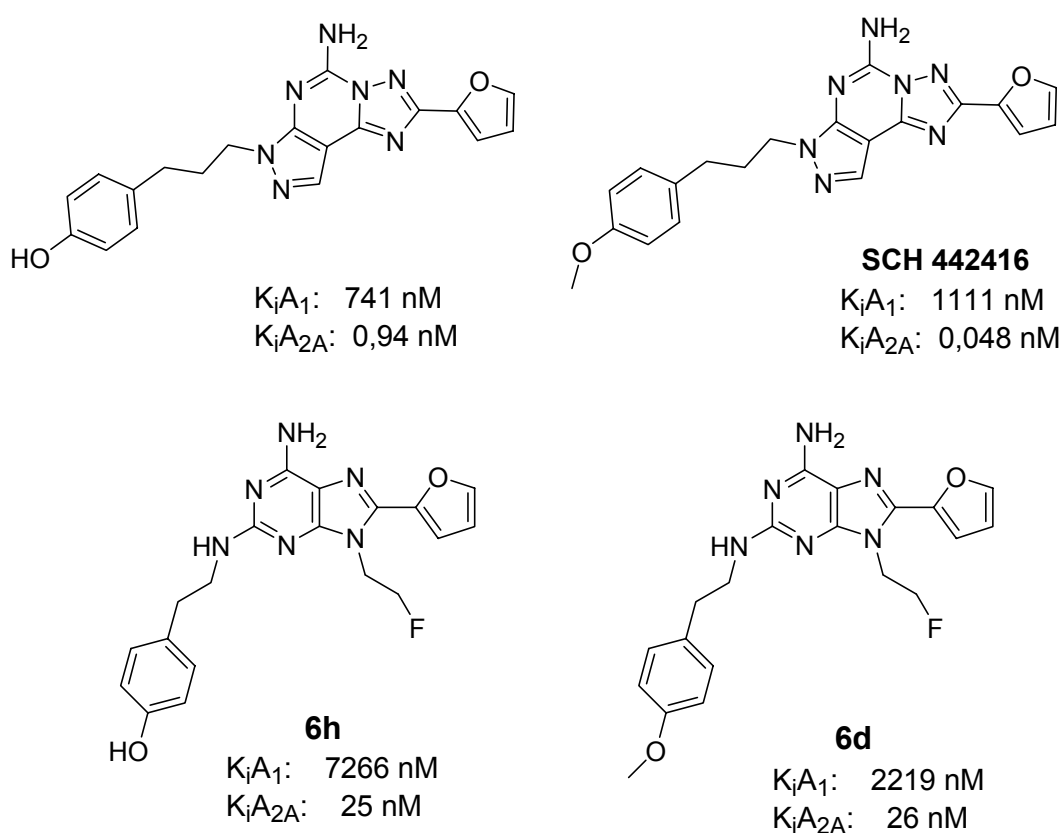


Abb. 3.3.6: Vergleich der Auswirkungen von Variationen der aromatischen Hydroxyfunktion bei 2,6-Diaminopurinen und Pyrazolo-triazolo-pyrimidinen [aus 135]

Die enormen sterischen Konsequenzen einer Iodierung des Aromaten haben auf die Bindung zum A_{2A}AR keinen Einfluss. Sowohl Verbindung **6h** als auch **6i** haben K_i -Werte im nanomolaren Bereich (25 nM bzw. 21 nM). Ähnlich geringfügige Auswirkungen wurden bei der Iodierung von ZM 241385 beobachtet [151, 189].

Eine Zusammenfassung der Struktur-Affinitäts-Beziehungen von N²-, N9 und C8 verschieden substituierten 2,6-Diaminopurinen zum A_{2A}-Adenosinrezeptor ist in Abbildung 3.3.7 gegeben.

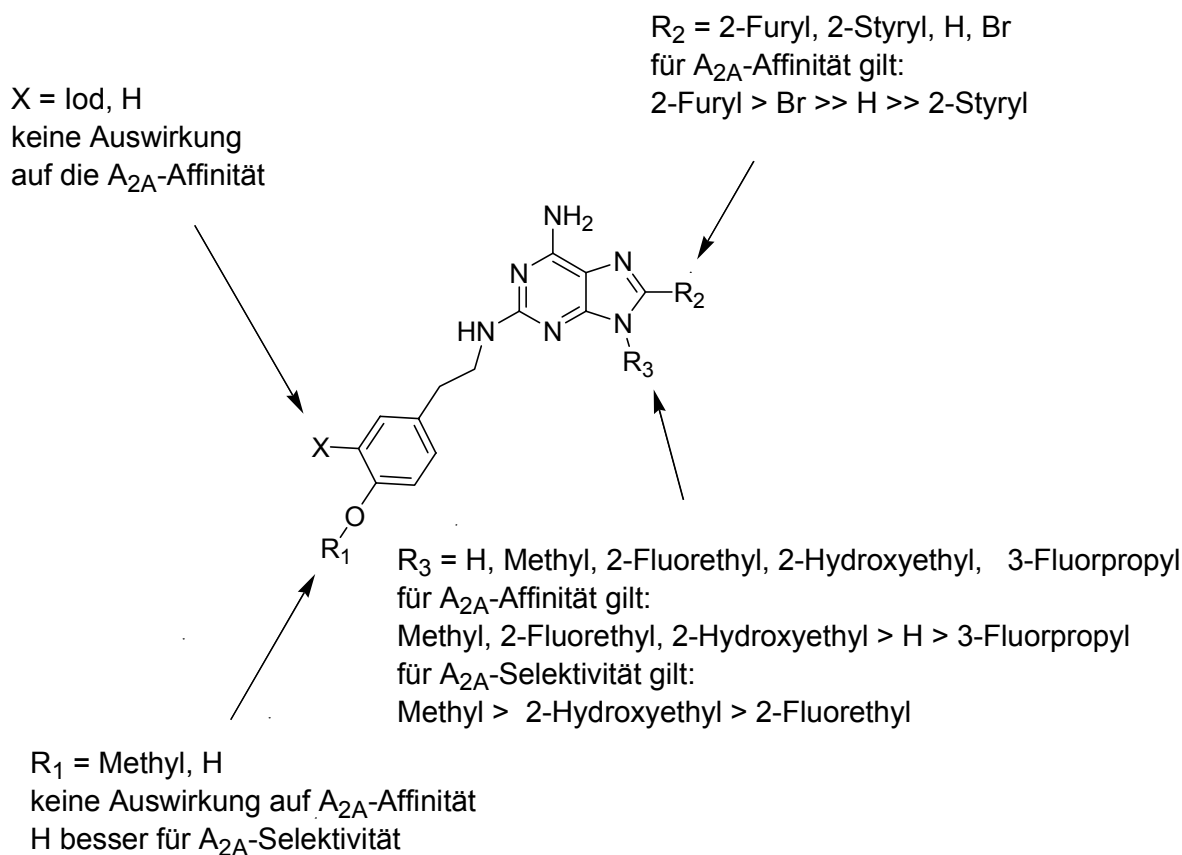


Abb. 3.3.7: Strukturelle Modifikationen an 2,6-Diaminopurinen mit ihren Auswirkungen auf die Bindungseigenschaften

Viele hochaffinen AR Antagonisten besitzen nur eine geringe Wasserlöslichkeit, was die Möglichkeiten einer *in vivo* Anwendung stark einschränken kann [190]. Als Grundvoraussetzung für eine *in vivo* Verwendung wurde in der Literatur ein Verhältnis der Löslichkeit [μM] zur Affinität [μM], der sogenannte Bruns-Fergus-Index oder BF-Index, von mindestens 100 postuliert [186]. Dieser Wert dient einer Beurteilung hinsichtlich einer makroskopischen pharmakologischen Anwendung und wird in dieser Arbeit zum Vergleich der synthetisierten Liganden untereinander genutzt. Die experimentell bestimmten Löslichkeiten und sich daraus ergebende Verhältnisse zur Affinität sind oben in Tabelle 3.3.1 aufgeführt.

Wie zu erwarten war zeigen in der Position 8 unsubstituierte 2,6-Diaminopurine die höchsten (**5c**: > 15 μM) und 8-styryl substituierte die niedrigsten (**6e**: 30 nM) Wasserlöslichkeiten aller synthetisierten Verbindungen. Die hochaffinen Verbindungen **6a,c,d,h**

weisen Löslichkeiten im mikromolaren Bereich auf (1,7 – 7,3 μM). Der iodierte Ligand **6i** hat eine erwartete, deutlich geringere Wasserlöslichkeit von 50 nM. Erwähnenswert ist, dass durch Spaltung der Methoxygruppe des Substituenten an N², die Wasserlöslichkeit um etwa das vierfache gesteigert werden kann (**6d**: 1,7 μM ; **6h**: 7,3 μM). Das Löslichkeits-Affinitäts-Verhältnis ist für 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]-amino-8-(2-furyl)-9-(2-hydroxyethyl)-purin (**6c**) mit 347,6 am größten. Die Verbindungen **6a,h** haben deutlich über 100 liegende Werte. 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin (**6d**) liegt mit einem Verhältnis von 65 knapp darunter.

Wird versucht die berechneten logP-Werte mit der Löslichkeit zu korrelieren, so zeigt sich, dass ein linearer Zusammenhang beider Parameter für die synthetisierten Liganden nicht gegeben ist. Bei den meisten Verbindungen nimmt die Wasserlöslichkeit mit steigender Lipophilie zwar ab, jedoch ist dieser Zusammenhang unterschiedlich stark ausgeprägt und bei einigen Verbindungen nicht nachweisbar. So ist der in Position 8 unsubstituierte Ligand **5a** zwar lipophiler als der an dieser Stelle 2-furylierte, **5a** ist aber mehr als doppelt so gut in Wasser löslich. Gleiches gilt für **6d** und den 8-bromierten Liganden **6j**: durch die Bromierung sinkt die Lipophilie im Vergleich zum 2-Furylrest deutlich, die Löslichkeit jedoch ebenfalls. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass eine Fluorethylierung des N9-Amins die Lipophilie nicht verändert, die Wasserlöslichkeit aber deutlich erniedrigt.

Mehrere Verbindungen der dargestellten 6-Aminopurinderivate sind aufgrund ihrer Affinitäten und Selektivitäten potentielle Liganden für die PET. Vor allem die in 8-Position 2-furylierten und N9-alkylierten Liganden **6a,c,d,h,i** zeigen *in vitro* eine hohe A_{2A}-Rezeptoraffinität. Die errechnete Lipophilie dieser Verbindungen ist jedoch höher als die für eine BHS-Gängigkeit als besonders günstig angenommene. Ob die *in vivo* Eigenschaften der Liganden für eine Anwendung in der Hirndiagnostik ausreichend sind, können letztlich nur *ex vivo* Tierversuche mit Radioliganden aufzeigen. Zunächst müssen dafür die Substanzen allerdings radioaktiv markiert werden.

3.4 Markierungssynthesen

Zur Herstellung von markierten A_{2A}AR Liganden für die *in vivo* Bildgebung mittels der PET sind trägerarme Markierungen mit den Positronenstrahlern Fluor-18, Kohlenstoff-11 oder Iod-120/124 notwendig. Anstelle der teuren, positronenemittierenden Iodisotope wird zur Ausarbeitung der Synthesen und *in vivo* Evaluierung billigeres und durch die längere Halbwertszeit (8,02 Tage) in der Handhabung einfacheres Iod-131 verwendet.

Mit Iod-131 markiertes 6-Amino-2-[2-(4-hydroxy-3-iodphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin (**6i**) wurde als potentieller Radioiodtracer hergestellt. Eine separate Vorläufersynthese war nicht notwendig, da mit **6h**, wie für die makroskopische Synthese, bereits ein Markierungsedukt vorhanden war, welches durch elektrophile Radioiodierung zu [¹³¹I]**6i** umgesetzt werden kann.

Als ¹¹C-markierter Ligand wurde mit [¹¹C]Methyliodid in Position 9 alkyliertes, 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-methyl-purin (**6a**) gewählt. **6a** ist zum A_{2A}AR affin (K_i = 25 nM), hochselektiv (> 1000-fach) und besitzt eine relativ hohe Wasserlöslichkeit von 4,2 µM. Eine Markierung zur Evaluierung seiner Eignung als *in vivo* PET-Tracer erschien demnach vielversprechend, zumal auch hier keine Vorläufersynthese notwendig war, da ebenfalls das Edukt **5a** für eine Markierung geeignet ist.

Von den Fluor enthaltenden Liganden sind aufgrund ihrer Bindungseigenschaften und BF-Indices sowohl 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin (**6d**) als auch das entsprechende Phenolderivat **6h** in radiofluorierter Form von Interesse. Beide Verbindungen haben gleiche Affinitäten (25 nM) und ausgeprägte Selektivitäten zum A_{2A}AR, prinzipiell ist aber anzunehmen, dass **6h** wegen der höheren Selektivität (291- anstatt 85fach) und Löslichkeit (7,3 anstatt 1,7 µM) eher zur Aufnahme aussagekräftiger PET-Bilder geeignet ist. Markierungstechnisch ist die freie Hydroxyfunktion des Tyraminrestes am C2 des Antagonisten **6h** jedoch von Nachteil. Sie muss geschützt werden, da sie bei der nukleophilen Substitution mit [¹⁸F]Fluorid stören würde. Dies macht eine zweistufige Radiosynthese notwendig, da nach erfolgter ¹⁸F-Markierung wieder eine Abspaltung der hydroxylichen Schutzgruppe durchgeführt werden muss. Aus diesem Grund wurde zunächst **6d** als kalte Standardverbindung für einen radiofluorierten Tracer ausgewählt. Zur nukleophilen n.c.a. ¹⁸F-Fluorierung muss ein Markierungsvorläufer synthetisiert werden, der am N9-Ethylrest eine geeignete Abgangsgruppe enthält.

3.4.1 Radioiodierung

Die Radioiodierung von **6h** erfolgte durch Umsetzung mit n.c.a. $\text{Na}^{[^{131}\text{I}]}\text{I}$ und Chloramin-T als Oxidationsmittel in einem, auf pH 7 gepufferten, Acetonitril/Wasser-Gemisch. Die Reaktionsdauer betrug 2 Minuten. Eine anschließende Reinigung des Produktes durch reversed-phase Radio-HPLC ergibt n.c.a. $[^{131}\text{I}]\text{6i}$ (Abb. 3.4.1).

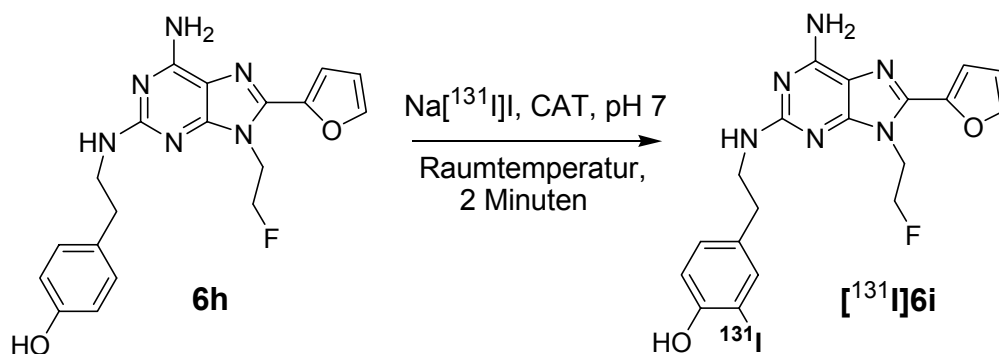


Abb. 3.4.1: Elektrophile Radiosynthese von n.c.a. 6-Amino-2-[2-(4-hydroxy-3- $[^{131}\text{I}]$ iod-phenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin ($[^{131}\text{I}]\text{6i}$)

Die Markierung wurde mehrmals wiederholt und die eingesetzte Aktivität A_0 , die des Vorlaufs der HPLC (anorgan. Iodspezies $[^{131}\text{I}]\text{Iodid}$, $[^{131}\text{I}]\text{Iodat}$ etc.), die im Reaktionsgefäß verbleibende und die erhaltene Aktivität des Produkts $[^{131}\text{I}]\text{6i}$ zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten gemessen (Tabelle 3.4.1). Radioaktive Nebenprodukte konnten bei der Markierung nicht beobachtet werden. Die im Mittel bei der Radiosynthese eingesetzten 3,7 MBq (100 μCi) ^{131}I entsprechen in trägerfreiem Zustand etwa 6 picomol. Von dem Markierungsedukt **6h** wurden jedoch 3,9 μmol vorgelegt, es lag demnach in mehr als 100.000fachem Überschuss vor. Unter den trägerarmen Reaktionsbedingungen ist es daher statistisch extrem unwahrscheinlich, dass wie im Falle der makroskopischen Iodierung das diiodierte Produkt entsteht.

Die erreichte radiochemische Ausbeute (RCA) der Markierung von **6h** mit n.c.a. $[^{131}\text{I}]\text{Iodid}$ beträgt $71 \pm 9 \%$. Anhand der chromatographischen Analysen konnte aus dem Integral des UV-Peaks und der zuvor bestimmten Eichgeraden für n.c.a. $[^{131}\text{I}]\text{6i}$ eine spezifische Aktivität von 962 GBq/mmol (26 Ci/mmol) berechnet werden. Dieser relativ schlechte Wert hängt damit zusammen, dass das von der Firma Amersham bezogene $[^{131}\text{I}]\text{Iodid}$ bereits bei der Anlieferung eine schlechte spezifische Aktivität aufwies und es zusätzlich eine relativ alte Iodidlösung war. Bei einer Übertragung der Markierungsmethode auf $^{120/124}\text{I}$ -Markierungen sind höhere spezifische Aktivitäten zu erwarten.

Tabelle 3.4.1: Radioaktivitätsbilanzen der Iodierung von **6h** mit n.c.a. Na[¹³¹I]I

Nr.	A ₀ [kBq]	[¹³¹ I]Iodid [kBq]	Reaktionsgefäß [kBq]	Aktivität [¹³¹ I]6i [kBq]	radiochemische Ausbeute [%]
1	4255	777	351,5	2904,5	68
2	4033	1258	111	2608,5	65
3	4033	1073	92,5	2257	56
4	4995	425,5	388,5	4088,5	82
5	4440	537,5	314,5	3404	77
6	2349,5	333	74	1813	77

3.4.2 ¹¹C-Methylierung

Die Möglichkeit der selektiven Radiosynthese von n.c.a 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-[¹¹C]methyl-purin (**[¹¹C]6a**) wurde durch Umsetzung von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9H-purin (**5a**) mit [¹¹C]Methyljodid unter basischen Bedingungen in DMF untersucht.

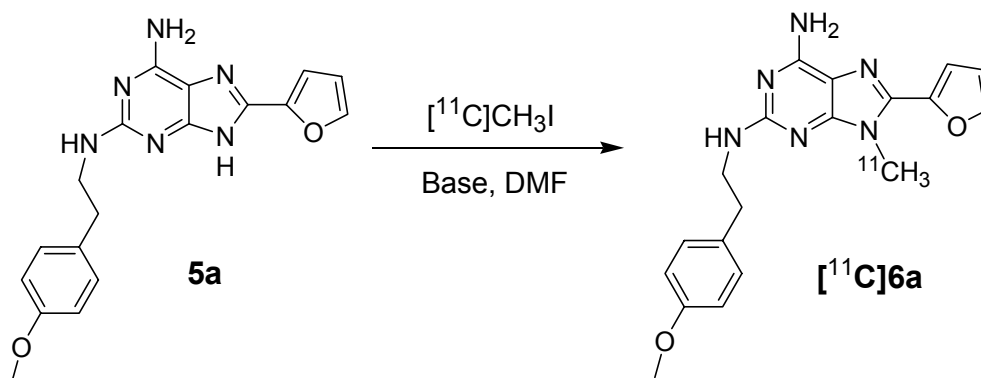


Abb. 3.4.2: Radiosynthese von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-[¹¹C]methyl-purin (**[¹¹C]6a**)

[¹¹C]Methyljodid wurde in einer automatisierten Synthese durch Reduktion von [¹¹C]CO₂, welches direkt aus dem Target erhalten wird, mit Lithiumaluminiumhydrid, Hydrolyse und anschließender Umsetzung mit Triphenylphosphindiiodid erhalten (s. Kapitel 4.4.1).

Zunächst wurde versucht, die ¹¹C-Methylierung von **5a** unter den Standardreaktionsbedingungen für eine Methylierung von sekundären Aminen [191] zu erreichen. Die

Umsetzung von 1 μmol **5a** mit 2 μmol K_2CO_3 und $[^{11}\text{C}]\text{Methyliodid}$ für 5 Minuten bei 80 °C in DMF ergab jedoch nur eine RCA von etwa 13 % $[^{11}\text{C}]\textbf{6a}$. Bei der Analyse des Radiochromatogramms viel auf, dass neben einem polaren Nebenprodukt noch etwa 80 % unverbrauchtes $[^{11}\text{C}]\text{Methyliodid}$ in der Reaktionslösung vorhanden waren. Eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 10 Minuten erhöhte die RCA auf knapp über 20 %. Im Hinblick auf die sehr kurze Halbwertszeit von Kohlenstoff-11 ist eine weitere Verlängerung der Reaktionszeit ungünstig. Offenbar reicht die Nukleophilie des N9-Amins trotz Zugabe von Kaliumcarbonat für eine schnelle Reaktion mit Methyliodid nicht aus. Zur Optimierung der RCA wurde daher die stärkere Hilfsbase Natriumhydrid anstelle von Kaliumcarbonat verwendet. Es zeigte sich, dass unter diesen Bedingungen nach 5 Minuten bei 80 °C eine RCA von 69 ± 3 % $[^{11}\text{C}]\textbf{6a}$ erreicht werden kann. In der Reaktionslösung lassen sich hier noch etwa 3 % unverbrauchtes Methyliodid sowie drei polare radioaktive Nebenprodukte nachweisen. Wird die Reaktion bei Raumtemperatur durchgeführt, so lässt sich die Bildung der Nebenprodukte weitgehend unterdrücken, wobei jedoch die RCA auf 60 ± 5 % sinkt. Es entsteht nur noch dasselbe Nebenprodukt wie bei der Verwendung von Kaliumcarbonat mit einer RCA von etwa 8 %, der Rest ist unverbrauchtes $[^{11}\text{C}]\text{Methyliodid}$.

Aufgrund der einfacheren präparativen Isolierung des $[^{11}\text{C}]\textbf{6a}$ von Methyliodid, Edukt und Nebenprodukt mittels HPLC ist die Markierung bei Raumtemperatur der bei 80 °C vorzuziehen, obwohl eine etwas geringere RCA resultiert. Für die spezifische Aktivität von n.c.a. $[^{11}\text{C}]\textbf{6a}$ konnte nach radiochromatographischer Auswertung über das UV-Signal des Massepeaks einer Präparation von 1036 MBq (28 mCi) $[^{11}\text{C}]\textbf{6a}$ ein Wert von 46,6 GBq/mmol (1260 Ci/mmol) berechnet werden (EOS).

3.4.3 Radiofluorierung

Die Synthese des Vorläufers zur Radiofluorierung, 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-tosyloxyethyl)-purin (**12**), erfolgte durch Umsetzung von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9H-purin (**5a**) mit 1,2-bis-Tosyloxyethan in Acetonitril mit Kaliumcarbonat als Base und Kryptofix® 2.2.2 als Phasentransferkatalysator (Abb. 3.4.3). Das Tosylat **12** wurde dabei mit einer Ausbeute von 89 % erhalten.

Die Synthese reaktiverer Markierungsvorläufer mit Mesylat- oder Triflat-Abgangsgruppen gelang nicht, da die entstandenen Produkte instabil sind und, wie durch Massenspektrometrie gezeigt werden konnte, bei der Aufarbeitung in protischen Lösungsmitteln quantitativ eliminieren.

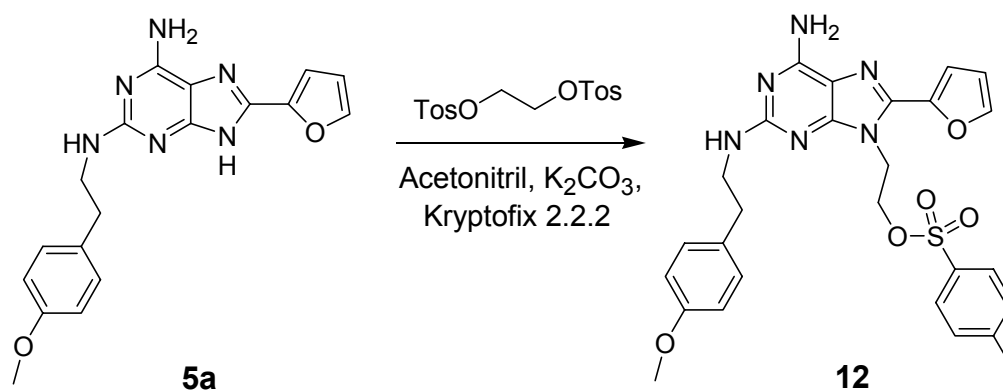


Abb. 3.4.3: Synthese des ^{18}F -Fluorierungsvorläufers 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-tosyloxyethyl)-purin (**12**)

Die trägerarme Radiofluorierung des Tosylates erfolgte mit $[^{18}\text{F}]$ Fluorid über die Aminopolyether gestützte (Kryptofix 2.2.2/ K_2CO_3) [35, 192] nukleophile Substitution (Abb. 3.4.4).

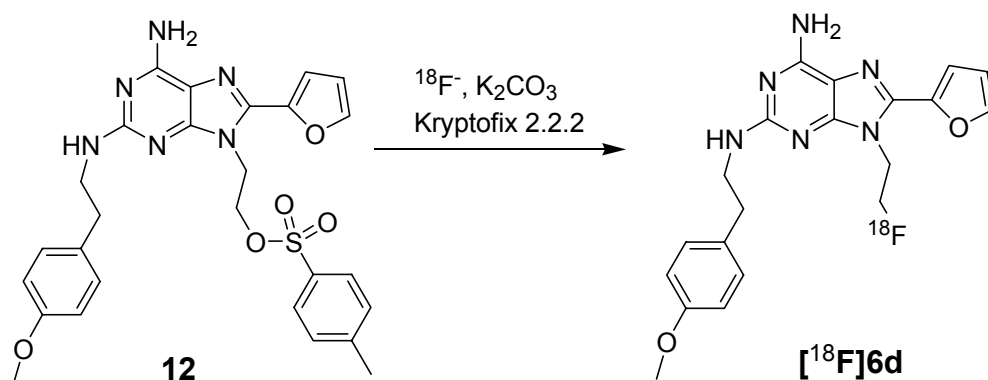


Abb. 3.4.4: Nukleophile, kryptatgestützte Radiosynthese von 6-Amino-2-[2-(4-methoxy-phenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2- $[^{18}\text{F}]$ fluorethyl)-purin ($[^{18}\text{F}]$ **6d**)

Da die radiochemischen Ausbeuten von n.c.a. Radiofluorierungen stark temperaturabhängig sind und sowohl von der eingesetzten Vorläuferkonzentration als auch dem verwendeten Lösungsmittel abhängen können, wurden die optimalen Bedingungen für die Radiosynthese untersucht. Für jede Optimierung wurden mindestens drei Versuche durchgeführt, die angegebenen Fehlerbalken entsprechen den Standardabweichungen.

Zunächst wurde das für die Radiofluorierung am besten geeignete Lösungsmittel in Abhängigkeit von der Reaktionszeit bestimmt. Dazu wurde der Einfluss der aprotischen Lösungsmittel DMSO, DMF und Acetonitril bei 85 °C und einer Eduktkonzentration von 6,7 mmol/l (5 µmol) untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.4.5 graphisch dargestellt.

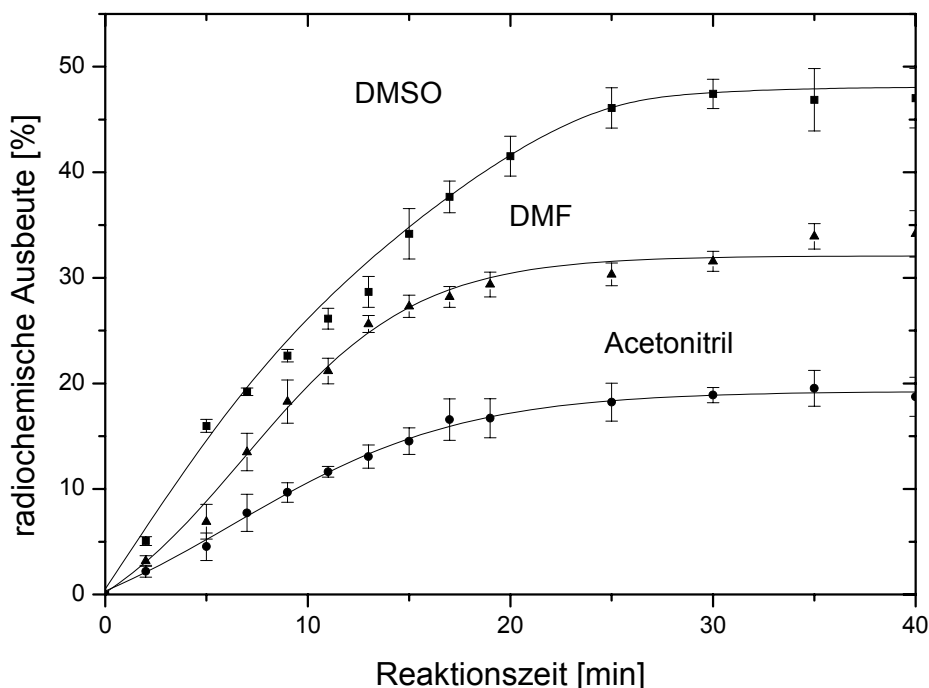


Abb. 3.4.5: Radiochemische Ausbeute an $[^{18}\text{F}]\mathbf{6d}$ als Funktion der Reaktionszeit in Abhängigkeit vom Lösungsmittel

Reaktionsbedingungen: 37 MBq $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$; 26 µmol Kryptofix [2.2.2];

12 µmol K_2CO_3 ; Volumen = 750 µl; 85 °C

Eduktmenge: 5 µmol

Wie in Abbildung 3.4.5 zu erkennen ist, haben die Lösungsmittel einen entscheidenden Einfluss auf den Reaktionsverlauf. In allen Lösungsmitteln ist das Produkt $[^{18}\text{F}]\mathbf{6d}$ bei 85 °C offensichtlich stabil, da jeweils eine konstante maximale RCA erhalten wird. Während diese in DMSO nach 25 Minuten einen Grenzwert von $47 \pm 3 \%$ erreicht, liegen die von DMF mit ca. 33 % und Acetonitril mit etwa 18 % deutlich darunter.

Um den Einfluss der Temperatur auf die Bildung von $[^{18}\text{F}]\mathbf{6d}$ zu untersuchen, wurde die Radiofluorierung bei 100, 120, 140 und 160 °C in DMSO durchgeführt. Die Ergebnisse in Abbildung 3.4.6 zeigen, dass eine maximale RCA von 70 % bei 140 °C erreicht wird. Die Zeitabhängigkeit der radiochemischen Ausbeuten entspricht hyperbolischen Kurven, was typisch für Reaktionen pseudo-erster Ordnung ist (vergl. Kapitel 1.4).

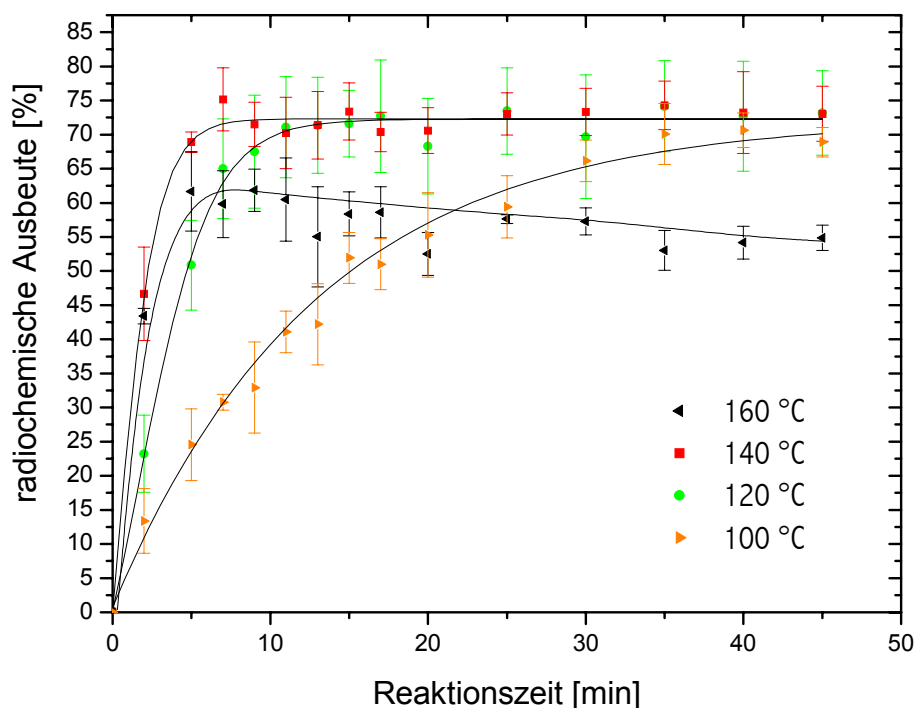


Abb. 3.4.6: Radiochemische Ausbeute an $[^{18}\text{F}]\mathbf{6d}$ als Funktion von Zeit und Temperatur

Reaktionsbedingungen: 37 MBq $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$; 26 μmol Kryptofix [2.2.2];

12 μmol K_2CO_3 ; 750 μl DMSO

Eduktmenge: 5 μmol

Die Kurven der Zeitabhängigkeiten der RCA von $[^{18}\text{F}]\mathbf{6d}$ sind für 120 und 140 °C sehr ähnlich und die erreichbaren Grenzausbeuten mit knapp über 70 % praktisch gleich. Die Reaktion verläuft bei 140 °C jedoch etwas schneller, so dass bei dieser Temperatur der Grenzwert bereits nach etwa 7 Minuten erreicht wird, was bei 120 °C erst nach ca. 15 Minuten der Fall ist. Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 160 °C bedingt keine Verbesserung der RCA sondern zeigt nach ca. 5 Minuten ein Maximum von ca. 60 %, wodurch kein Sättigungswert erzielt, sondern mit längerer Reaktionszeit die RCA gerin-

ger wird. Da bei geringeren Temperaturen sowohl höhere maximale RCA als auch Sättigung erreicht werden und im Radiochromatogramm radioaktive und stabile Nebenprodukte zu finden sind, sind sowohl der Vorläufer als auch das Markierungsprodukt bei 160 °C instabil.

Als weiteren optimierbaren Reaktionsparameter der Radiofluorierung wurde die eingesetzte Konzentration des Tosylates **12** in einem Bereich zwischen 1,33 mmol/l und 8 mmol/l variiert und die RCA jeweils nach einer Reaktionszeit von 7 Minuten bei einer Temperatur von 140 °C bestimmt. Eine möglichst geringe Eduktkonzentration ist insofern von Bedeutung, als dass die nach der Markierung folgende chromatographische Isolierung des Radiotracers wesentlich einfacher durchzuführen ist, je weniger absolute Stoffmengen auf die Säule aufgegeben werden müssen. Obwohl alle untersuchten Eduktkonzentrationen ein Vielfaches (> Faktor 1000) der Konzentration des [^{18}F]Fluorids entsprechen, wurde noch eine Abhängigkeit der RCA von der Vorläuferkonzentration festgestellt (Abb. 3.4.7).

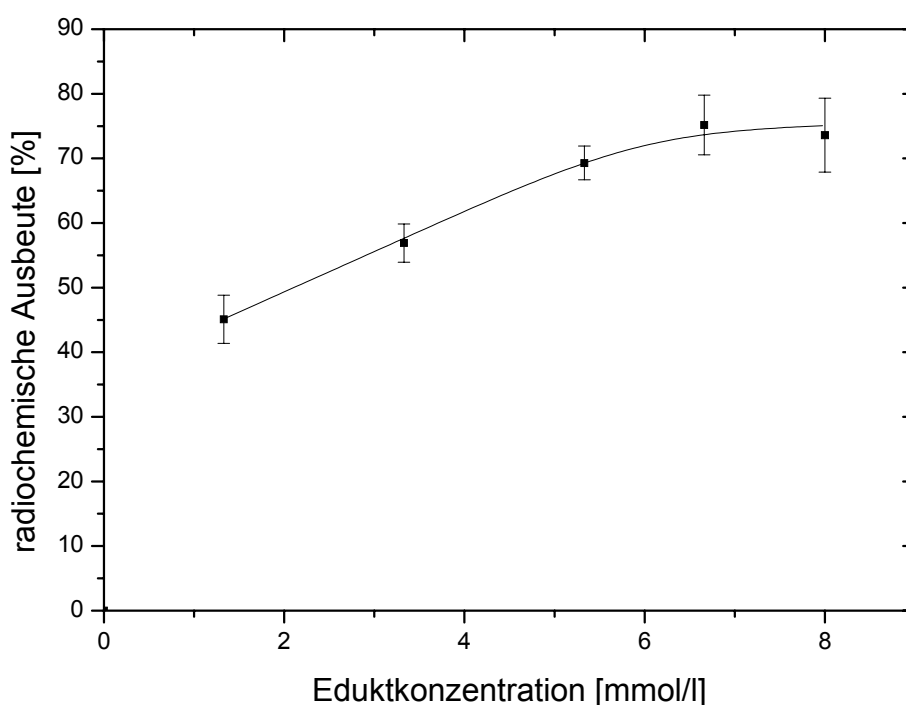


Abb. 3.4.7: Abhängigkeit der radiochemische Ausbeute an [^{18}F]**6d** als Funktion von der Eduktkonzentration

Reaktionsbedingungen: 37 MBq [^{18}F]Fluorid; 26 μmol Kryptofix [2.2.2];

12 μmol K_2CO_3 ; 750 μl DMSO; 140 $^\circ\text{C}$; 7 Minuten

Die Untersuchungen zum Verlauf der ^{18}F -Fluorierung zeigen, dass eine Verminderung der Eduktkonzentration unter 6,5 mmol/l zu einer signifikanten Abnahme der RCA führt. Eine Erhöhung über diese Konzentration hinaus hat jedoch keine Verbesserung der optimalen Ausbeute von $72 \pm 6 \%$ zur Folge.

Die Umsetzung von 4,5 μmol 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-tosyloxyethyl)-purin **12** in 0,75 ml DMSO (6 mmol/l) bei einer Temperatur von 140 $^\circ\text{C}$ entspricht daher den optimalen Bedingungen für die kryptatgestützte, trägerarme Radiosynthese von 6-Amino-2-[2-(4-methoxy-phenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-[^{18}F]-fluorethyl)-purin (**[^{18}F]6d**). Für die spezifische Aktivität von n.c.a. **[^{18}F]6d** konnte nach radiochromatographischer Auswertung über das UV-Signal des Massepeaks ein Wert von 62,9 GBq/ μmol (1,7 Ci/ μmol) berechnet werden (EOS).

Die drei ausgewählten Liganden **6a**, **6d** und **6i** lassen sich trägerarm in ausreichenden radiochemischen Ausbeuten und spezifischen Aktivitäten markieren. Eine weitere Evaluierung dieser 6-Aminopurine als potentielle *in vivo* PET-Tracer zur Darstellung der $\text{A}_{2\text{A}}$ AR im ZNS ist nun möglich, da mit **[^{18}F]6d**, **[^{11}C]6a** und **[^{131}I]6i** trägerarm markierte Liganden für *in vitro* autoradiographische Untersuchungen zur Verfügung stehen.

3.4 Autoradiographische *in vitro* Studien am Rattenhirn

Die oben beschriebenen markierten Liganden wurden von der Radiopharmakologiegruppe des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH mittels *in vitro* Autoradiographien an Rattenhirnen weiter evaluiert. Deren Ergebnisse sind hier kurz zusammengefasst, da sie notwendig für die Bewertung der neuen Verbindungen als potentielle *in vivo* PET-Tracer zur Darstellung der $\text{A}_{2\text{A}}$ Adenosinrezeptoren sind.

Zur Aufnahme der Autoradiographien wurden vorbehandelte Rattenhirnschnitte mit dem jeweiligen Radioliganden inkubiert, anschließend gewaschen und auf einem Phosphor Imaging System ausgelesen. Zur Bestimmung des unspezifischen Bindungsanteils werden die mit dem Radiotracer versetzten Schnitte mit höheren Konzentrationen eines nicht radioaktiven affinen Liganden inkubiert, gewaschen und dann ebenfalls aus-

gelesen. Da davon ausgegangen werden kann, dass aufgrund des Überschusses an spezifischem Ligand der Radioligand vollständig von den spezifischen Bindungsstellen verdrängt wird, verbleibt nur noch unspezifisch gebundener Radioligand auf dem Schnitt. In Abbildung 3.4.8 sind beispielhaft *in vitro* Autoradiogramme der affinen und selektiven A_{2A} AR-Liganden [^3H]ZM241385 ($K_D = 0,4 \text{ nM}$; $\log P = 2,16$), [^{131}I]Iod-ZM241385 ($K_D = 2,2 \text{ nM}$; $\log P = 2,98$) und [^{131}I]Diiod-ZM241385 ($K_D = 15 \text{ nM}$; $\log P \gg 3$) gezeigt. Die Totalbindung ist in den oberen, die unspezifische Bindung (gegen $20 \mu\text{M}$ kalten Liganden) in den unteren Bildern zu sehen.

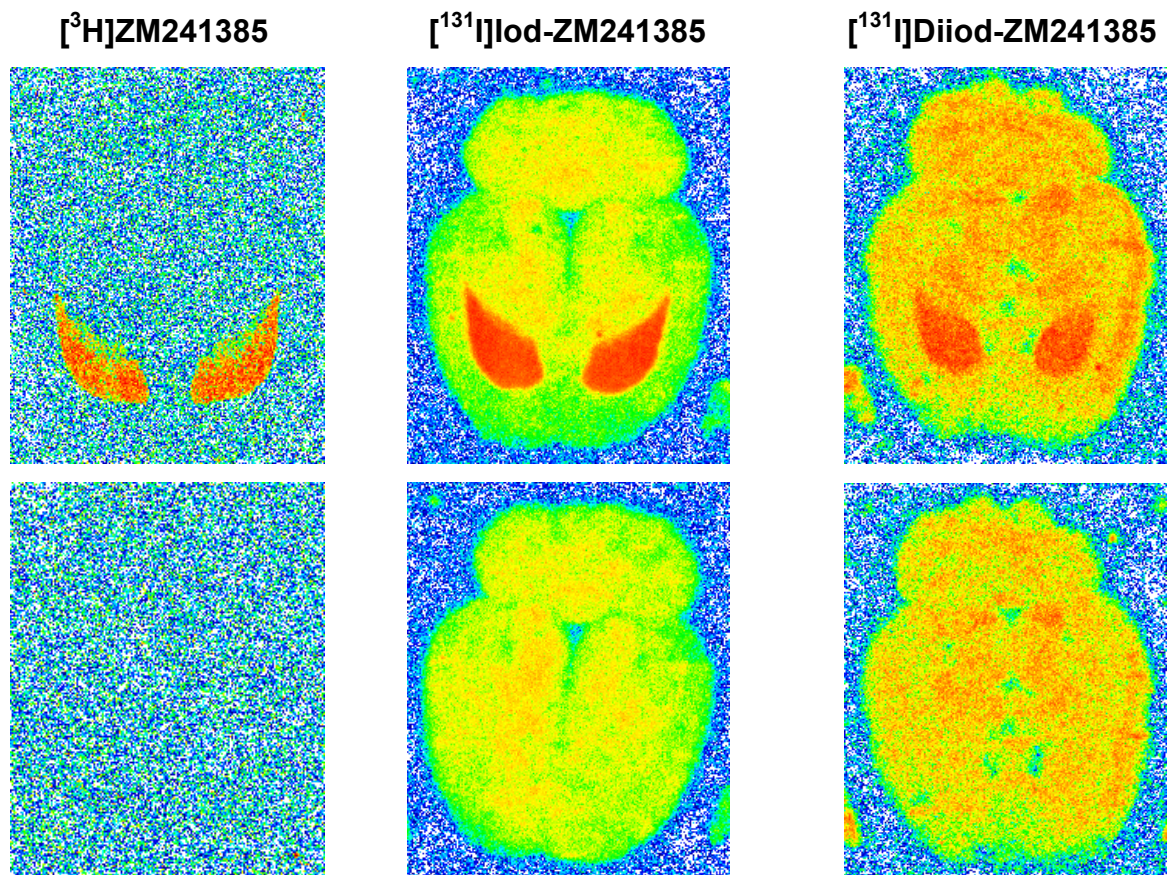


Abb. 3.4.8: Autoradiogramme der selektiven A_{2A} AR-Liganden [^3H]ZM241385, [^{131}I]Iod-ZM241385 und [^{131}I]Diiod-ZM241385 an Rattenhirnen [aus 193]

Man erkennt deutlich, dass alle drei Liganden spezifisch und mit hoher Affinität *in vitro* an die striatalen A_{2A} AR binden, da das Striatum jeweils deutlich vom restlichen Hirngewebe zu unterscheiden ist. Die unspezifische Bindung nimmt mit dem Iodie-

rungsgrad und der Lipophilie zu, von im Mittel 5 % bei [^3H]ZM241385, zu etwa 40 % bei [^{131}I]ZM241385 und 50 % bei [^{131}I]Diiodo-ZM241385.

Die Autoradiogramme der im Rahmen dieser Arbeit trägerarm synthetisierten Liganden 6-Amino-2-[2-(4-methoxy-phenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2- ^{18}F fluorethyl)-purin (**[^{18}F]6d**) und 6-Amino-2-[2-(4-hydroxy-3- ^{131}I iod-phenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin (**[^{131}I]6i**) wurden nach dem gleichen Verfahren wie die der ZM-Derivate aufgenommen. Zur Bestimmung des unspezifischen Bindungsanteils wurde unmarkiertes ZM 241385 als Kompetitor verwendet (5 μM bei [^{131}I]6i, 10 μM bei [^{18}F]6d). Die gewonnen Autoradiodiagramme sind in Abbildung 3.4.9 dargestellt, wobei jeweils wieder das obere Bild die Totalbindung und das untere die Bindung in Gegenwart des Kompetitors wiedergibt.

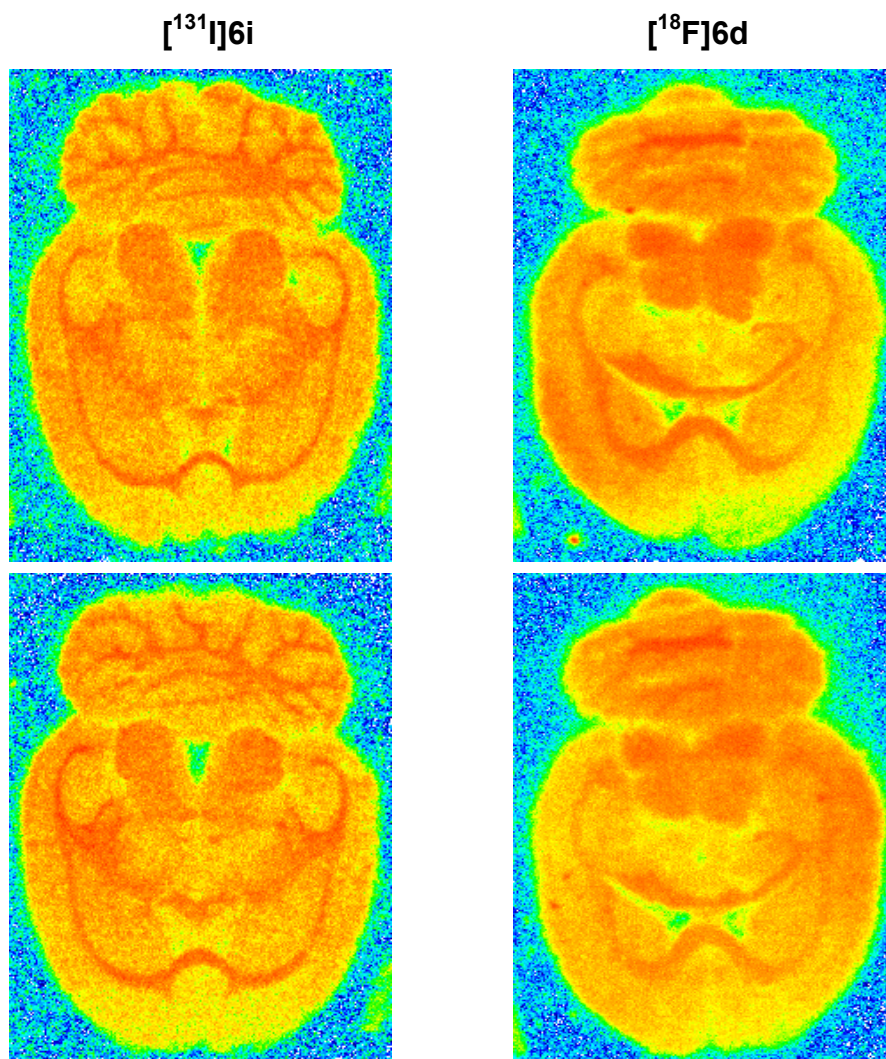


Abb. 3.4.8: Autoradiogramme der Liganden [^{131}I]6i und [^{18}F]6d an Rattenhirnschnitten

Wie die Autoradiogramme zeigen, binden beide Verbindungen *in vitro* weder selektiv noch affin an die striatalen A_{2A}AR. Es ist kein Unterschied in der Totalbindung und der unspezifischen Bindung an den A_{2A}AR zu erkennen, weshalb anzunehmen ist, dass die unspezifische Bindung die spezifische überlagert. Es ist daher mit den markierten Verbindungen nicht möglich, die A_{2A}AR-Dichte im Gehirn zu bestimmen. Interessant ist jedoch, dass verschiedene Hirnregionen deutlich voneinander unterschieden werden können. Eine Zuordnung dieser Bindung, wenn sie denn überhaupt eine selektive Rezeptorbindung darstellt, ist im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

Da beide Verbindungen keinerlei sichtbare Anreicherungen in Gewebe mit hoher A_{2A}AR-Dichte zeigen, wurde auf die Aufnahme von Autoradiogrammen mit [¹¹C]6a verzichtet. Ebenfalls sind aufgrund dieser Ergebnisse der *in vitro* Studien *ex vivo* Experimente zur Bestimmung der Ligandenaufnahme ins Hirn sowie Metabolitenstudien nicht angezeigt, weshalb sie nicht durchgeführt wurden.

Kapitel 4

Experimenteller Teil

4.1 Generelles

Alle verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Aldrich (Deutschland), Fluka (Schweiz) oder Merck (Deutschland) bezogen. Sie entsprechen, sofern es nicht anders angegeben ist, p.a.-Qualität und wurden nicht weiter gereinigt. Zur säulenchromatographischen Reinigung der Verbindungen wurde Merck Silicagel 60 (0,063–0,200 mm) verwendet. Alle Flüssigkeitsmischungen werden in Volumenverhältnissen angegeben.

Zur Bestimmung der Schmelzpunkte wurde ein Gerät der Firma Mettler Typ FP61 verwendet. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

Analytische Dünnschichtchromatographie erfolgte auf mit Aluminiumoxid (Alox) oder Kieselgel (SiO₂) beschichteten Folien der Firma Macherey & Nagel Düren, Deutschland (Polygram ALOX N/UV₂₅₄ oder Polygram SIL G/UV₂₅₄; beide 40x80 mm).

Die ¹H-, ¹³C- und ¹⁹F-NMR-Spektren wurden mit einem Bruker DPX Avance 200 Spektrometer bei 200, 50 und 188 MHz aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm angegeben, wobei die Protonensignale des jeweiligen Lösungsmittels als interne Standards benutzt wurden. Kopplungen werden in der Einheit Hz angegeben.

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte mit einem Gerät der Firma Thermoquest (Typ Automass Multi III). Die massenspektroskopischen Analysen wurden mittels Elektronensprayionisation (ESI) oder durch Elektronenstoßionisation (EI) durchgeführt.

Die Durchführung der hochauflösenden massenspektroskopischen Untersuchungen wurde in der Abteilung für Massenspektrometrie am Institut für Organische Chemie der Universität zu Köln durchgeführt. Die Messungen erfolgten mittels Electrospray-MS nach Standardmethoden an einem Finnigan MAT 900 ST Massenspektrometer bei einer Auflösung ≥ 8000 und einem Fehler ≤ 5 mmu.

4.2 Synthese der Standards und Vorläufer

2-Methylsulfanyl-4,6-diaminopyrimidin 1

Eine Mischung von 4,6-Diamino-2-mercaptopyrimidin Hydrat (50 g; 351 mmol) und Methyljodid (49,8 g; 21,8 ml; 350 mmol) in wasserfreiem Ethanol (200 ml) wird im Rückfluss eine Stunde lang gerührt. Die klare hellbraune Lösung wird mit Aktivkohle versetzt, heiß durch Seesand filtriert und das rötliche Filtrat im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der grünliche Feststoff (Hydrojodid) wird in kochendem Wasser (ca. 150 ml) gelöst, und die gelbe Lösung mit $\text{NH}_{3(\text{aq})}$ (32 %; ~ 30 ml) auf pH 9 eingestellt. Der in der Kälte ausfallende farblose Feststoff wird abfiltriert, mit eiskaltem Wasser gewaschen und in 250 ml Aceton suspendiert. Die Mischung wird ca. 15 Minuten zum Sieden erhitzt, heiß filtriert und das Filtrat vom Lösungsmittel befreit. Der kristalline Rückstand wird in 250 ml siedendem Wasser gelöst, im Eisbad direkt wieder gekühlt, der ausfallende hellgelbe Feststoff abfiltriert und bei 100 °C getrocknet.

Ausbeute:	45,3 g (290 mmol; 83 %)
Schmelzpunkt:	188-189°C
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO):	δ 2,34 (s; 3H; -S-CH ₃); 5,16 (s; 1H; H-5); 6,09 (s _{br} ; 4H; 2 x -NH ₂).
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO):	δ 13,77 (-S-CH ₃); 79,84 (C5); 164,26 (C4 und C6); 169,68 (C2).
MS (EI):	m/e 156 M ⁺ (100 %)

4,6-Diamino-2-methylmercapto-5-nitrosopyrimidin 2 [nach 159]

Eine Lösung von **1** (15,6 g; 100 mmol) in Wasser (750 ml) und Eisessig (42 ml) wird im Eisbad gekühlt und mit einer ebenfalls gekühlten wässrigen NaNO_2 -Lösung (14,4 g; 208 mmol in 150 ml) versetzt. Nachdem 2 h im Eisbad gerührt wurde, wird der hellblaue Feststoff filtriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet.

Ausbeute:	18,2 g (98,26 mmol; 98 %)
Schmelzpunkt:	260-262 °C Zersetzung

Im NMR sind sowohl Signale der Nitrosoverbindung als auch des entsprechenden tautomeren Oxims zu sehen. Im Gegensatz zu dem ^{13}C -Spektrum ist eine genaue Unterscheidung der Tautomere im ^1H -Spektrum nicht möglich.

^1H -NMR (DMSO): 2,48 (s; 3H; -S-CH₃); 7,9-10,2 (m; 4H; 2 x -NH₂).

^{13}C -NMR (DMSO, Nitroso):

δ 14,49 (-S-CH₃); 139,85 (C5); 165,15 (C4 und C6); 179,50 (C2).

^{13}C -NMR (DMSO, Oxim):

δ 14,49 (-S-CH₃); 144,88 (C5); 146,63 (C4 und C6); 179,50 (C2).

MS (EI): m/e 185 M⁺ (100 %)

4,6-Diamino-2-(2-(4-methoxyphenyl)ethylamin)-5-nitrosopyrimidin 3 [nach 166]

Eine Suspension von **2** (9,3 g; 50 mmol) in 250 ml eines Wasser/MeOH-Gemisches (70/30) wird mit 2-(4-Methoxyphenyl)-ethylamin (7,6 g; 7,4 ml; 50 mmol) versetzt und für 3,5 h im Rückfluss (Ölbad: 130 °C) gerührt. Nach 3,5 h rührt man noch eine halbe Stunde bei Raumtemperatur nach, filtriert das ausgefallene Produkt ab, wäscht mit Wasser und trocknet anschließend bei 100 °C.

Ausbeute: 12,1 g (42 mmol; 84 %)

Schmelzpunkt: bei 180 °C Zersetzung zu schwarzem Produkt

Im NMR sind sowohl Signale der Nitrosoverbindung als auch des entsprechenden tautomeren Oxims zu sehen. Bei den ^1H -Spektren ist eine genaue Unterscheidung der Tautomere nicht möglich.

^1H -NMR (DMSO): δ 2,48-2,52 (m; 2H; -CH₂-Aryl); 3,47-3,58 (m; 2H; -CH₂-NH-); 3,73 (s; 3H; -O-CH₃); 6,80-6,89 (m; 2H; arom. H); 7,14-7,21 (m; 2H; arom. H); 7,55-10,54 (m; 5H; 2 x -NH₂; 1 x -NH).

^{13}C -NMR (DMSO, Nitroso):

δ 35,17 (-CH₂-Aryl); 43,45 (-CH₂-NH-); 55,82 (-O-CH₃); 114,59 (2 x arom. C); 130,48 (2 x arom. C); 132,12 (arom. C); 138,65 (C5); 158,53 (arom. C); 163,78 (C6); 163,90 (C4); 166,81 (C2).

^{13}C -NMR (DMSO, Oxim):

δ 35,17 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Aryl}$); 43,45 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-NH-}$); 55,82 ($-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 114,59 (2 x arom. C); 130,48 (2 x arom. C); 132,12 (arom. C); 144,82 (C5); 151,47 (C6); 151,55 (C4); 158,53 (arom. C); 166,15 (C2).

MS (EI): m/e 288 M^+ (100 %); 167 [$\text{M}^+ - 121$] (72 %)

4,5,6-Triamino-2-(2-(4-methoxyphenyl)ethylamin)-pyrimidin 4 [nach 194]

Fein pulverisiertes **3** (14,4 g; 50 mmol) wird in 300 ml einer Mischung aus Ethanol/Wasser (50/50) bei 80 °C aufgelöst. Die zur vollständigen Entfärbung der roten Lösung notwendige Menge an Natriumdithionit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$; ca. 25 g; 225 mmol) wird in kleinen Portionen über einen Zeitraum von 20 Minuten unter starkem Rühren zugegeben. Anschließend wird die entstandene gelbe Lösung heiß durch Seesand filtriert und langsam abgekühlt. Der ausfallende hellgelbe Feststoff wird filtriert, mit 1-Propanol/Dichlormethan (70/30) digeriert (1/2 Stunde bei 40 °C), filtriert und getrocknet.

Ausbeute: 9,9 g (36 mmol; 72 %)

Schmelzpunkt: 133-134 °C

^1H -NMR (DMSO): δ 2,71 (t; $J = 6,8$; 2H; $-\text{CH}_2\text{-Aryl}$); 3,50 (t; $J = 5,3$; 2H; $-\text{CH}_2\text{-NH-}$); 2,80-4,0 (s_{br} ; 4H; 2 x $-\text{NH}_2$); 3,71 (s; 3H; $-\text{O}-\text{CH}_3$); 6,28-6,39 (s_{br} ; 2H; $-\text{NH}_2$); 6,41-6,44 (s_{br} ; 1H; $-\text{NH-}$); 6,82-6,86 (d; 2H; arom. H); 7,18-7,31 (d; 2H; arom. H).

^{13}C -NMR (DMSO): δ 35,00 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Aryl}$); 43,23 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-NH-}$); 55,80 ($-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 114,57 (2 x arom. C); 130,39 (C5); 130,51 (2 x arom. C); 132,02 (arom. C); 150,86 (C4,6); 158,36 (C2); 158,51 (arom. C).

MS (EI): m/e M^+ 274 (25 %); 153 [$\text{M}^+ - 121$] (100 %)

4,5,6-Triamino-2-methylmercaptopyrimidin Sulfat 7 [nach 194]

Eine Suspension von **2** (20 g; 108 mmol) in 360 ml siedendem Wasser wird gerührt und über einen Zeitraum von 20 Minuten werden 42 g (240 mmol) Natriumdithionit in kleinen Portionen zugegeben (starke Gasentwicklung!!). Während der Zugabe ändert sich die Farbe von blau nach hellgelb. Die siedende Mischung wird vorsichtig mit 100 ml 50 % H_2SO_4 versetzt, anschließend wird Aktivkohle zugegeben und schnell, heiß durch Seesand filtriert. Das hellgelbe Filtrat wird auf 0 °C gekühlt, der ausfallende Feststoff abfiltriert

und mit viel Eiswasser gewaschen. Man erhält 20 g (68 %) Rohprodukt. Umkristallisation aus heißem Wasser ergibt das Produkt in Form weißer Kristalle.

Ausbeute: 18,3 g (67,6 mmol; 63 %)

Masse (ESI): m/e 172 [M+H]⁺ (100 %)

2-Furancarbonsäureethylesterimid Hydrochlorid [nach 195]

Hydrogenchlorid wird unter starkem Rühren und Eiskühlung eine Stunde lang durch eine Mischung 46,5 g 2-Furonitril (0,5 mol; d = 1,064 g/ml; 43,7 ml) und 30 ml absolutem Ethanol (0,5 mol) geleitet. Nach einer weiteren halben Stunde bei 0 °C bildet sich ein grauer Feststoff. Der Ansatz wird mit Diethylether versetzt und über Nacht bei -5 °C aufbewahrt, filtriert und unter vermindertem Druck getrocknet.

Ausbeute: 85,6 g (487 mmol; 97 %)

Masse (ESI): m/e 140 [M+H]⁺ (100 %)

trans-Zimtsäureethylesterimid Hydrochlorid [nach 195]

Hydrogenchlorid wird unter starkem Rühren und Eiskühlung eine Stunde lang durch eine Mischung 52,05 g trans-Zimtsäurenitril (0,5 mol; d = 1,529 g/mol; 34 ml) und 90 ml absolutem Ethanol (1,5 mol) geleitet. Nach einer weiteren halben Stunde bei 0 °C bildet sich ein weißer Feststoff. Der Ansatz wird mit Diethylether versetzt und über Nacht bei -5 °C aufbewahrt, filtriert und unter vermindertem Druck getrocknet.

Ausbeute: 91,8 g (412 mmol; 82 %)

Masse (ESI): m/e 176 [M+H]⁺ (100 %)

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino 8-(2-furyl)-9H-purin 5a [nach 156]

Eine Mischung bestehend aus Triamin **4** (4,5 g; 16,4 mmol), 2-Furancarbonsäureethylesterimid Hydrochlorid (4,4 g; 25 mmol) und 4-Dimethylaminopyridin (2,0 g; 16,4 mmol) in 150 ml Pyridin, wird unter einer Argonatmosphäre und heftigem Rühren 3 Stunden im Rückfluss erhitzt. Das Lösemittel wird anschließend unter vermindertem Druck im Was-

serbad entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch mit Essigester/Hexan 9/1 gereinigt.

Ausbeute:	2,76 g (7,8 mmol; 48 %)
Schmelzpunkt:	220-222 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,78 (t; J = 7,1; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,12 (m; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,73 (s; 3H; -O-CH ₃); 6,23 (t; 1H; CH ₂ -NH-); 6,65 (dd; 1H; furyl-H4'); 6,77 (s _{br} ; 2H; -NH ₂); 6,86 (d; 2H; arom. H); 7,00 (d; J = 3,2; 1H; furyl-H3'); 7,17 (d; 2H; arom. H); 7,82 (d; J = 1,5; 1H; furyl-H5'); 12,82 (s _{br} ; 1H; -N9-H).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 35,35 (-CH ₂ -Aryl); 43,88 (-CH ₂ -NH-); 55,81 (-O-CH ₃); 109,42 (furyl-C4'); 112,81 (furyl-C3'); 114,57 (2 x arom. C); 130,44 (2 x arom. C); 132,85 (arom. C); 138,65 (C8); 144,53 (furyl-C5'); 146,64 (furyl-C2'); 152,11 (C ₅); 153,20 (C4/5); 156,40 (C6); 158,41 (arom. C); 160,30 (C2).
MS (ESI):	m/e 351 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (Alox):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,43; Essigester/Hexan 10/1, R _F -Wert: 0,34
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,36
HRMS (ESI):	berechnet: 351,1569 u [M+H] ⁺ , gefunden: 351,157 u [M+H] ⁺

*6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino 8-styryl-9H-purin **5b** [nach 156]*

Eine Mischung, bestehend aus Triamin **4** (3,5 g; 12,7 mmol), trans-Zimtsäureethylesterimid Hydrochlorid (4,2 g; 20 mmol) und 4-Dimethylaminopyridin (1,57 g; 12,8 mmol) in 300 ml Pyridin, wird unter einer Argonatmosphäre im Rückfluss gerührt. Nach 5 Stunden Reaktionszeit, wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand mit der doppelten Menge Wasser versetzt und 3mal mit 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird aus Methanol mit einigen Tropfen Ethylacetat auskristallisiert, mit Wasser/MeOH (85/15) gewaschen und anschließend getrocknet.

Ausbeute:	4,9 g (10,2 mmol; 81%)
Schmelzpunkt:	262-263 °C

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO):	δ 2,80 (t; $J = 7,0$; 2H; $-\text{CH}_2\text{-Aryl}$); 3,44 (m; $J = 5,9$; 2H; $-\text{CH}_2\text{-NH-}$); 3,73 (s; 3H; $-\text{O-CH}_3$); 6,26 (t; 1H; $\text{CH}_2\text{-NH-}$); 6,75 (s_{br} ; 2H; $-\text{NH}_2$); 6,87 (d; 2H; tyramin arom. H); 6,98-7,07 (d; $J = 16,5$ 1H; styryl-H); 7,18 (d; 2H; tyramin arom. H); 7,28-7,48 (m; 4H; styryl-H; 3 x styryl arom. H); 7,61 (d; 2H; styryl arom. H); 12,51 (s_{br} ; 1H; $-\text{N9-H}$).
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO):	δ 35,38 ($-\text{CH}_2\text{-Aryl}$); 43,89 ($-\text{CH}_2\text{-NH-}$); 55,82 ($-\text{O-CH}_3$); 114,57 (2 x tyramin arom. C); 118,98 ($-\text{C}=\text{C-Ph}$); 127,43 (2 x styryl arom. C); 129,13 (styryl arom. C); 129,79 (2 x styryl arom. C); 130,44 (2 x tyramin arom. C); 132,85 (styryl arom. C); 132,85 (tyramin arom. C); 137,04 ($-\text{C}=\text{C-Ph}$); 144,88 (C8); 154,43 (C4/5); 156,28 (C6); 158,42 (tyramin arom. C); 160,33 (C2).
MS (ESI):	m/e 387 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %)
DC (Alox):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R_f -Wert: 0,6
HRMS (ESI):	berechnet: 387,1932 u $[\text{M}+\text{H}]^+$; gefunden: 387,194 u $[\text{M}+\text{H}]^+$

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-9H-purin 5c [nach 169]

4 (3,25; 12 mmol) wird in 120 ml Formamid (3,85 mol; $d = 1,44$ g/ml; $M = 45,05$ g/mol) für 2 h im Rückfluss erhitzt. Anschließend wird der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt, mit der doppelten Menge Eiswasser versetzt und für 24 h bei $+4$ °C belassen. Der dabei ausfallende gelbe Feststoff wird abfiltriert und unter vermindertem Druck getrocknet. Das Rohprodukt wird mit Diethylether digeriert, filtriert, aus Methanol/Wasser (20/80 + 3% H_2SO_4) umkristallisiert und anschließend getrocknet.

Ausbeute:	3,1 g (10,92 mmol; 91%)
Schmelzpunkt:	210-212 °C
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO):	δ 2,77 (t; $J = 7,2$; 2H; $-\text{CH}_2\text{-Aryl}$); 3,42 (m; $J = 5,6$; 2H; $-\text{CH}_2\text{-NH-}$); 3,73 (s; 3H; $-\text{O-CH}_3$); 6,13 (t; 1H; $\text{CH}_2\text{-NH-}$); 6,56 (s_{sharp} ; 2H; $-\text{NH}_2$); 6,85 (d; 2H; arom. H); 7,16 (d; 2H; arom. H); 7,69 (s; 1H; C8-H); 12,29 (s_{br} ; 1H; $-\text{NH-}$).
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO):	δ 35,36 ($-\text{CH}_2\text{-Aryl}$); 43,93 ($-\text{CH}_2\text{-NH-}$); 55,81 ($-\text{O-CH}_3$); 114,55 (2 x arom. C); 130,38 (2 x arom. C); 132,89 (arom. C); 136,46 (C8); 145,13 (C4/5); 156,48 (C6); 158,39 (arom. C); 160,20 (C2).

MS (ESI):	m/e 285 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 10/1, R _F -Wert: 0,54
HRMS (EI):	berechnet: 284,1386 u [M] ⁺ ; gefunden: 284,138 u [M] ⁺

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-methyl-purin **6a**

2,0 g (5,73 mmol) **5a**, 1,0 g (7,3 mmol) trockenes K₂CO₃ und 0,42 ml (0,93 g; 6,5 mmol) Methyljodid werden unter Argon in 50 ml trockenem DMF miteinander suspendiert. Man rührt für 24 h bei Raumtemperatur, anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand zwei mal aus Essigsäure und Wasser umkristallisiert und getrocknet.

Ausbeute:	1,8 g (4,94 mmol; 86 %)
Schmelzpunkt:	131-132 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,80 (t; J = 7,5; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,41 (dt; J = 5,8; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,73 (s; 3H; -O-CH ₃); 3,78 (s; 3H; N-CH ₃); 6,37 (t; 1H; CH ₂ -NH-); 6,71 (dd; 1H; furyl-H4'); 6,86 (d; 2H; arom. H); 6,89 (s _{br} ; 2H; -NH ₂); 7,02 (d; J = 3,5; 1H; furyl-H3'); 7,19 (d; 2H; arom. H); 7,89 (d; J = 1,8; 1H; furyl-H5').
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 30,48 (-N9-CH ₃); 35,37 (-CH ₂ -Aryl); 44,12 (-CH ₂ -NH-); 55,83 (-O-CH ₃); 110,97 (furyl-C4'); 112,74 (furyl-C3'); 113,93 (C5); 114,59 (2 x arom. C); 130,48 (2 x arom. C); 132,87 (arom. C); 138,89 (C8); 144,72 (furyl-C5'); 146,06 (furyl-C2'); 153,78 (C4); 156,55 (C6); 158,43 (arom. C); 160,16 (C2).
MS (ESI):	m/e 365 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (Alox):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,52
HRMS (ESI):	berechnet: 365,1725 u [M+H] ⁺ ; gefunden: 365,173 u [M+H] ⁺

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-styryl-9-methyl-purin **6b**

5b (0,9 g; 2,33 mmol), trockenes K₂CO₃ (1,0 g; 7,3 mmol) und 0,3 ml Methyljodid (0,66 g; 4,5 mmol) werden unter Argon in 40 ml trockenem DMF miteinander suspendiert. Man rührt für 24 h bei Raumtemperatur, anschließend wird mit derselben Menge Wasser versetzt und diese Mischung 3mal mit 30 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phase werden mit 100 ml Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und

anschließend vom unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird aus Aceton/Wasser umkristallisiert. Der bei 4 °C ausfallende gelbe Feststoff, wird filtriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Die Umkristallisation erfolgt aus Dichlormethan und Hexan.

Ausbeute:	0,84 g (2,1 mmol; 90 %)
Schmelzpunkt:	222 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,80 (t; J = 7,0; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,46 (m; J = 5,5; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,71 (s; 3H; -N-CH ₃); 3,74 (s; 3H; -O-CH ₃); 6,30 (t; 1H; -CH ₂ -NH-); 6,71 (s _{br} ; 2H; -NH ₂); 6,87 (d; 2H; tyramin arom. H); 7,20 (d; 2H; tyramin arom. H); 7,29-7,47 (m; 4H; styryl-H; 3 x styryl arom. H); 7,54-7,62 (d; J = 16,0; 2H; styryl-H); 7,72 (d; 2H; styryl arom. H).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 28,86 (N-CH ₃); 35,42 (-CH ₂ -Aryl); 44,18 (-CH ₂ -NH-); 55,85 (-O-CH ₃); 113,93 (C5); 114,60 (2 x tyramin arom. C); 115,92 (-C=C-Ph); 127,84 (2 x styryl arom. C); 129,21 (styryl arom. C); 129,68 (2 x styryl arom. C); 130,49 (2 x tyramin arom. C); 132,88 (tyramin arom. C); 132,94 (-C=C-Ph); 137,18 (styryl arom. C); 145,53 (C8); 153,76 (C4); 156,40 (C6); 158,43 (tyramin arom. C); 160,09 (C2).
MS (ESI):	m/e 401 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (Alox):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,78
HRMS (ESI):	berechnet: 401,2089 u [M+H] ⁺ ; gefunden: 401,208 u [M+H] ⁺

**6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-hydroxyethyl)-
purin **6c****

5a (1,96 g; 5,6 mmol), trockenes K₂CO₃ (0,85 g; 6,1 mmol) und 0,46 ml 2-Bromethanol (6,5 mmol) werden unter Argon in 30 ml trockenem DMF miteinander suspendiert. Katalytische Mengen an KI werden hinzugegeben. Man rührt für 48 h bei Raumtemperatur, gibt dann nochmals 2-Bromethanol (0,2 ml; 2,8 mmol) dazu und rührt für weitere 6 Stunden. Anschließend wird die Reaktionsmischung filtriert, das Filtrat mit dem doppelten Volumen Wasser versetzt und 5 x mit 50 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet, eingeeengt und das Produkt aus Acetonitril umkristallisiert.

Ausbeute:	1,67 g (4,3 mmol; 76 %)
Schmelzpunkt:	177 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,79 (t; J = 6,8; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,39 (m; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,73 (m; 5H; -O-CH ₃ und N-CH ₂ -CH ₂ -); 4,32 (s _{br} ; 2H; -CH ₂ -OH); 5,09 (m; 1H; -OH); 6,41 (t; J = 5,7; 1H; -CH ₂ -NH-); 6,70 (dd; 1H; furyl-H4'); 6,85-6,88 (m; 4H; 2 x arom. H und -NH ₂); 7,04 (d; J = 3,5; 1H; furyl-H3'); 7,21 (d; 2H; arom. H); 7,87 (d; J = 1,3; 1H; furyl-H5').
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 35,37 (-CH ₂ -Aryl); 44,21 (-CH ₂ -NH-); 55,82 (-O-CH ₃); 46,71 (-CH ₂ -N-); 60,10 (-CH ₂ -OH); 111,19 (furyl-C4'); 111,22 (furyl-C3'); 112,64 (C5); 114,57 (2 x arom. C); 130,50 (2 x arom. C); 132,88 (arom. C); 138,70 (C8); 144,64 (furyl-C5'); 146,07 (furyl-C2'), 153,71 (C4); 156,70 (C6); 158,41 (arom. C); 160,28 (C2).
MS (ESI):	m/e 395 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (Alox):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,55
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,40 Essigester/Hexan 10/1, R _F -Wert: 0,25
HRMS (ESI):	berechnet: 395,1831 u [M+H] ⁺ ; gefunden: 395,184 u [M+H] ⁺

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin **6d**
5a (1,5 g; 4,3 mmol), trockenes K₂CO₃ (0,7 g; 5,5 mmol) und 0,37 ml 1-Brom-2-fluorethan (0,635 g; 5 mmol) werden unter Argon in 50 ml trockenem DMF miteinander vermischt. Man rührt für 24 h bei 60 °C, versetzt anschließend mit 50 ml Wasser und extrahiert 3mal mit jeweils 50 ml Dichlormethan. Die organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet, stark eingeeengt mit 10 ml Methanol/Wasser (10/1) versetzt und das Produkt bei 4 °C auskristallisiert.

Ausbeute:	1,62 g (4,1 mmol; 95 %)
Schmelzpunkt:	140-141 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,80 (t; J = 6,9; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,37-3,56 (m; J = 5,7; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,73 (s; 3H; -O-CH ₃); 4,68 (dt; J _{HH} = 4,8; J _{HF} = 24,8; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F); 4,75 (dt; J _{HF} = 47,1; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F);

	6,44 (t; 1H; -CH ₂ -NH-); 6,67 (dd; 1H; furyl-H4'); 6,86 (d; 2H; arom. H); 6,91 (s _{br} ; 2H; -NH ₂); 7,00 (d; J = 3,3; 1H; furyl-H3'); 7,19 (d; 2H; arom. H); 7,88 (d; J = 1,7; 1H; furyl-H5').
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 35,36 (-CH ₂ -Aryl); 44,17 (-CH ₂ -NH-); 55,81 (-O-CH ₃); 80,75 (-CH ₂ -N-); 84,10 (-CH ₂ -F); 111,42 (furyl-C4'); 112,74 (furyl-C3'); 113,95 (C5); 114,58 (2 x arom. C); 130,48 (2 x arom. C); 132,89 (arom. C); 138,37 (C8); 144,77 (furyl-C5'); 146,01 (furyl-C2'); 153,83 (C ₄); 156,77 (C6); 158,42 (arom. C); 160,41 (C2).
¹⁹ F-NMR (DMSO):	δ -223,96 (s; 1F)
MS (ESI):	m/e 397 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (Alox):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _f -Wert: 0,6
HRMS (ESI):	berechnet: 397,1788 u [M+H] ⁺ ; gefunden: 397,179 u [M+H] ⁺

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-styryl-9-(2-fluorethyl)-purin **6e**

5b (1,9 g; 4,92 mmol), (1,0 g; 7,3 mmol) trockenes K₂CO₃ und 0,37 ml 1-Brom-2-fluorethan (0,635 g; 5 mmol) werden unter Argon in 50 ml trockenem DMF miteinander vermischt. Man rührt 3 Tage bei 60 °C. Anschließend wird mit demselben Volumen Wasser versetzt und **6e** in der Kälte auskristallisiert. Der Feststoff wird abfiltriert, im Ultraschallbad mit Methanol digeriert, nochmals gekühlt anschließend filtriert und getrocknet. Man erhält einen gelben Feststoff.

Ausbeute:	1,93 g (4,5 mmol; 93 %)
Schmelzpunkt:	188-189 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,77 (t; J = 7,0; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,31 (m; J = 5,5; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,73 (s; 3H; -O-CH ₃); 4,64 (dt; J _{HF} = 26,1; J _{HH} = 4,2; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F); 4,70 (dt; J _{HF} = 47,5; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F); 6,38 (t; 1H; CH ₂ -NH-); 6,83 (s _{br} ; 2H; -NH ₂); 6,86 (d; 2H; tyramin arom. H); 7,19 (d; 2H; tyramin arom. H); 7,29-7,46 (m; 4H; styryl-H; 3 x styryl arom. H); 7,61 (d; J = 15,9; 1H; styryl-H); 7,71 (d; 2H; styryl arom. H).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 35,39 (-CH ₂ -Aryl); 44,21 (-CH ₂ -NH-); 55,82 (-O-CH ₃); 81,20 (-CH ₂ -N-); 84,54 (-CH ₂ -F); 114,46 (C5); 114,58 (2 x tyramin arom. C); 115,77 (styryl C); 127,88 (2 x styryl arom. C); 129,23

	(styryl arom. C); 129,66 (2 x styryl arom. C); 130,49 (2 x tyramin arom. C); 132,92 (tyramin arom. C); 133,10 (styryl C); 137,15 (styryl arom. C); 145,41 (C8); 153,60 (C4); 156,48 (C6); 158,42 (tyramin arom. C); 160,11 (C2).
¹⁹ F-NMR (DMSO):	δ -223,14 (s; 1F)
MS (ESI):	m/e 433 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (Alox):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,80
HRMS (ESI):	berechnet: 433,2151 u [M+H] ⁺ ; gefunden: 433,215 u [M+H] ⁺

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-9-(2-fluorethyl)-purin **6f**

5c (0,8 g; 2,8 mmol), trockenes K₂CO₃ (0,6 g; 4,56 mmol) und 0,37 ml 1-Brom-2-Fluorethan (0,635 g; 5 mmol) werden unter Argon in 50 ml trockenem DMF miteinander vermischt. Man rührt für 24 h bei 60 °C, wobei nach 12 Stunden nochmals 0,15 ml 1-Brom-2-Fluorethan zugegeben werden. Anschließend wird der Reaktionsansatz filtriert, eingeeengt und säulenchromatographisch gereinigt (25/1 Dichlormethan/Methanol). Man erhält das Produkt nach Kristallisation aus Dichlormethan/Hexan in Form gold glänzender Plättchen.

Ausbeute:	0,74 g (2,23 mmol; 79 %)
Schmelzpunkt:	79 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,78 (t; J = 7,1; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,42 (m; J = 5,3; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,73 (s; 3H; -O-CH ₃); 4,33 (dt; J _{HF} = 26,9; J _{HH} = 4,7; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F); 4,79 (dt; J _{HF} = 47,2; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F); 6,29 (t; 1H; -CH ₂ -NH-); 6,76 (s; 2H; -NH ₂); 6,86 (d; 2H; arom. H); 7,18 (d; 2H; arom. H); 7,74 (s; 1H; C8-H).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 35,36 (-CH ₂ -Aryl); 44,01 (-CH ₂ -NH-); 55,81 (-O-CH ₃); 80,75 (-CH ₂ -N); 84,0 (-CH ₂ -F); 113,96 (C5); 114,56 (2 x arom. C); 130,48 (2 x arom. C); 132,91 (arom. C); 138,33 (C8); 152,55 (C4); 156,88 (C6); 158,41 (arom. C); 160,27 (C2).
¹⁹ F-NMR (DMSO):	δ -222,93 (s; 1F)
MS (ESI):	m/e 331 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (Alox):	Essigsäureethylester/Hexan 10/1, R _F -Wert: 0,48
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,39 Essigsäureethylester/Hexan 6/4, R _F -Wert: 0,18

HRMS (ESI): berechnet: 331,1682 u [M+H]⁺; gefunden: 331,168 u [M+H]⁺
6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(3-fluoropropyl)-purin 6g
 Vorschrift analog **6d**.

Ausbeute: 1,56 g (3,82 mmol; 89 %)

Schmelzpunkt: 129-131°C

¹H-NMR (DMSO): δ 2,15 (dt; J_{HF} = 27,3; 2H; -CH₂-CH₂-CH₂-F); 2,80 (t; J = 6,9; 2H; -CH₂-Aryl); 3,43 (m; J = 5,6 2H; -CH₂-NH-); 3,73 (s; 3H; -O-CH₃); 4,41 (t; J = 6,6; 2H; N-CH₂-CH₂-); 4,54 (dt; J_{HF} = 47,0; J_{HH}=5,4; 2H; -CH₂-CH₂-F); 6,43 (t; 1H; -CH₂-NH-); 6,71 (dd; 1H; furyl-H4'); 6,86 (d; 2H; arom. H); 6,88 (s_{br}; 2H; -NH₂); 7,00 (d; J = 3,3; 1H; furyl-H3'); 7,20 (d; 2H arom. H); 7,88 (d; J = 1,8; 1H; furyl-H5').

¹³C-NMR (DMSO): δ 35,43 (-CH₂-Aryl); 44,19 (-CH₂-NH-); 55,80 (-O-CH₃); 80,78 (-CH₂-N); 84,00 (-CH₂-F); 110,95 (furyl-C4'); 112,79 (furyl-C3'); 113,97 (C5); 114,56 (2 x arom. C); 130,47 (2 x arom. C); 132,89 (arom. C); 138,11 (C8); 144,77 (furyl-C5'); 146,03 (furyl-C2'); 153,69 (C4); 156,74 (C6); 158,41 (arom. C); 160,39 (C2).

¹⁹F-NMR (DMSO): δ -219,35 (s; 1F)

MS (ESI): m/e 411 [M+H]⁺ (100 %)

DC (Alox): Dichlormethan/MeOH 20/1, R_F-Wert: 0,68

HRMS (ESI): berechnet: 411,1944 u [M+H]⁺; gefunden: 411,193 u [M+H]⁺

**6-Amino-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-
 purin 6h [nach 177]**

Zu einer Lösung von **6b** (0,35 g; 0,88 mmol) in 25 ml Dichlormethan werden bei einer Temperatur von 0 °C und unter Argon 0,7 ml Bortribromid (1 M Lösung in Dichlormethan) zugegeben und die Mischung bei 5 °C für 5 Stunden gerührt. Nach 2 h erfolgt eine weitere Zugabe von 0,2 ml Bortribromid. Nach Beendigung der Reaktion werden ca. 2,5 ml Methanol zugegeben, nochmals 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und das Produkt durch langsame Zugabe von 50 ml Diethylether auskristallisiert. **6h** wird filtriert und mit kaltem Diethylether gewaschen.

Ausbeute:	0,21 g (0,54 mmol; 61 %)
Schmelzpunkt:	234-235 °C
^1H -NMR (DMSO):	δ 2,79 (t; $J = 6,8$; 2H; $-\text{CH}_2\text{-Aryl}$); 3,45-3,59 (m; 3H; $-\text{CH}_2\text{-NH-}$); 4,70 (dt; $J_{\text{HF}} = 21,0$; $J_{\text{HH}} = 3,9$; 2H; $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-F}$); 4,74 (dt; $J_{\text{HF}} = 46,9$; 2H; $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-F}$); 6,70 - 6,80 (m; 3H; 2 x arom. H; furyl-H4'); 7,08 (d; 2H; arom. H); 7,17 (d; $J = 3,4$; 1H; furyl-H3'); 7,65 (s_{br} ; 1H; $-\text{OH}$); 7,98 (d; $J = 1,4$; 1H; furyl-H5'); 8,71 (s_{br} ; 2H; $-\text{NH}_2$).
^{13}C -NMR (DMSO):	δ 34,41 ($-\text{CH}_2\text{-Aryl}$); 43,70 ($-\text{CH}_2\text{-NH-}$); 80,68 ($-\text{CH}_2\text{-N9-}$); 84,02 ($-\text{CH}_2\text{-F}$); 111,78 (furyl-C4'); 113,10 (furyl-C3'); 113,35 (C5); 116,08 (2 x arom. C); 129,79 (arom. C); 130,51 (2 x arom. C); 141,86 (C8); 144,42 (furyl-C5'); 144,89 (furyl-C2'); 146,05 (C4); 150,79 (C6); 151,83 (arom. C); 156,69 (C2).
^{19}F -NMR (DMSO):	δ -224,14 (s; 1F)
MS (ESI):	m/e 383 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %)
DC (Alox):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R_f -Wert: 0,36
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R_f -Wert: 0,33 Essigester/Hexan 10/1, R_f -Wert: 0,38
HRMS (ESI):	berechnet: 383,1631 u $[\text{M}+\text{H}]^+$; gefunden: 383,163 u $[\text{M}+\text{H}]^+$

**6-Amino-2-[2-(4-hydroxy-3-iodphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-
purin **6i****

6h (350 mg; 0,91 mmol) wird bei Raumtemperatur in 30 ml MeOH/Wasser (1/1) im Ultraschallbad gelöst. Anschließend wird im Eisbad gekühlt und die äquivalente Stoffmenge Iod (0,23 g; 0,91 mmol) in 20 ml MeOH unter Rühren zugegeben. Nach 15 Minuten wird die Reaktionsmischung 3mal mit Dichlormethan (15 ml) extrahiert. Die vereinigten, getrockneten organischen Phasen, werden unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird mit wenig Acetonitril (10 ml) aufgenommen. Analytische HPLC (70/30 Methanol/Wasser, Kromasil RP-18 5 μ ; 250 mm x 4,6 mm) zeigt das Auftreten von 2 Produkten (monoiodiert und diiodiert) sowie noch nicht umgesetztem Edukt. Die zweimalige MPL-chromatographische Reinigung (Säule: RP-18; 25-40 nm; 460x15 mm) liefert:

1. Reinigung: Trennung Monoiod/Diiod von Edukt; Eluent: 60:40 Acetonitril:Wasser

Retentionszeiten: Edukt: 8,3 Minuten; Monoiod-Produkt: 5,9 Minuten; Diiod-Produkt: 5,0 Minuten

2. Reinigung: Trennung Monoiod von Diiod; Eluent: 70:30 Acetonitril:Wasser

Retentionszeiten: Monoiod-Produkt: 7,9 Minuten, Diiod-Produkt: 5,8 Minuten

Ausbeute (Monoiod): 210 mg (0,42 mmol; 49 %); Ausbeute (Diiod): 21 %

Schmelzpunkt: 198 °C Zersetzung

¹H-NMR (DMSO): δ 2,73 (t; J = 7,1; 2H; -CH₂-Aryl); 3,55 (m; 2H; -CH₂-NH-); 4,67 (dt; J_{HF} = 25,8; J_{HH} = 4,6; 2H; N-CH₂-CH₂-F); 4,72 (dt; J_{HF} = 47,3; 2H; -N-CH₂-CH₂-F); 6,45 (t; J = 5,3; 1H; -NH-); 6,71 (m; 1H; furyl-H4'); 6,82 (d; J = 8,2; 1H; arom. H); 6,88 (s_{br}; 2H; -NH₂); 7,00 (d; J = 1,5; 1H; arom. H); 7,08 (m; 1H; arom. H); 7,57 (d; J = 3,4; 1H; furyl-H3'); 7,88 (d; J = 1,7; 1H; furyl-H5'); 10,1 (s_{br}; 1H; -OH).

¹³C-NMR (DMSO): δ 34,69 (-CH₂-Aryl); 44,03 (-CH₂-NH-); 80,51 (-CH₂-N9-); 84,12 (-CH₂-F); 85,25 (arom. C-I); 111,21 (furyl-C4'); 112,75 (furyl-C3'); 113,89 (C5); 115,67 (arom. C); 130,66 (arom. C); 133,66 (arom. C); 138,33 (arom. C); 139,48 (C8); 144,79 (furyl-C5'); 145,11 (furyl-C2'); 145,97 (C4); 155,65 (C6); 156,74 (C2); 160,37 (arom. C-OH).

¹⁹F-NMR (DMSO): δ -223,95 (s; 1F)

MS (ESI): 509 [M+H]⁺ (100 %)

DC (SiO): Dichlormethan/MeOH 20/1, R_F-Wert (Monoiod): 0,51

Dichlormethan/MeOH 20/1, R_F-Wert (Diiod): 0,54

HRMS (ESI): berechnet: 509,0598 u [M+H]⁺; gefunden: 509,060 u [M+H]⁺

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-bromo-9-(2-fluorethyl)-purin **6j**

Zu einer Lösung von **6f** (0,7 g; 2,1 mmol) in 20 ml DMF wird bei Raumtemperatur und unter Schutzgas langsam eine Lösung aus N-Bromsuccinimid (0,7 g; 3,9 mmol) in 20 ml DMF solange zugetropft, bis sich kein Edukt mehr nachweisen lässt (ca. 30 Minuten; 15 ml). Der Reaktionsverlauf wird über Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung mit 100 ml Wasser versetzt und dreimal mit 30 ml Essigester extrahiert. Die organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Produkt aus Methanol/Wasser auskristallisiert.

Ausbeute:	0,82 g (2 mmol; 97 %)
Schmelzpunkt:	172 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,78 (t; J = 6,6; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,29-3,39 (m; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,82 (s; 3H; -O-CH ₃); 4,33 (dt; J _{HH} = 4,3; J _{HF} = 25,9; 2H; -N-CH ₂ -CH ₂ -F); 4,78 (dt; J _{HF} = 46,5; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F); 6,48 (t; J = 5,8; 1H; -CH ₂ -NH-); 6,86 (d; 2H; arom. H); 6,88 (s; 2H; -NH ₂); 7,15 (d; 2H; arom. H).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 35,26 (-CH ₂ -Aryl); 44,06 (-CH ₂ -NH-); 55,84 (-O-CH ₃); 80,07 (-CH ₂ -N); 83,82 (-CH ₂ -F); 114,24 (C5); 114,58 (2 x arom. C); 122,15 (C8); 130,46 (2 x arom. C); 132,80 (arom. C); 153,67 (C ₄); 155,66 (C6); 158,43 (arom. C); 159,99 (C2).
¹⁹ F-NMR (DMSO):	δ -224,24 (s; 1F)
MS (ESI):	m/e 409 [M+H] ⁺ (100 %; Br-79), 411 [M+H] ⁺ (96 %, Br-81)
DC (SiO):	Hexan/Essigester 4/6, R _f -Wert: 0,49
HRMS (ESI):	berechnet: 409,0789 u [M+H] ⁺ ; gefunden: 409,078 u [M+H] ⁺

6-Amino-2-methylsulfanyl-8-(2-furyl)-purin **8** [nach 156]

Eine Mischung von **7** (13,5 g; 50,1 mmol), 4-Dimethylaminopyridin (6,1 g; 50,1 mmol), 2-Furancarbonsäureethylesterimid Hydrochlorid (13,2 g; 75 mmol) in 250 ml Pyridin werden 5h im Rückfluss gerührt und das Lösungsmittel anschließend entfernt. Der Rückstand wird mit Dichlormethan/Methanol (10/90; 250 ml) 0,5 h bei 30 °C digeriert, filtriert und das Filtrat vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird mit Wasser/Acetonitril (40/60 100 ml) auskristallisiert. **8** wird anschließend filtriert, mit Diethylether gewaschen und im Exsikator getrocknet.

Ausbeute:	8,4 g (34 mmol; 68 %)
Schmelzpunkt:	271-274 °C Zersetzung
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,47 (s; 3H; -S-CH ₃); 6,71 (m; 1H; furyl-H4'); 7,12 (s _{br} ; 1H; furyl-H3'); 7,25 (s; 2H; -NH ₂); 7,88 (s _{br} ; 1H; furyl-H5'); 13,34 (s; 1H; NH).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 14,52 (-S-CH ₃); 110,95 (furyl-C4'); 113,01 (furyl-C3'); 117,91 (C5); 140,50 (C8); 145,36 (furyl-C5'); 145,98 (furyl-C2'); 152,72 (C ₄); 155,84 (C6); 164,95 (C2).

MS (ESI): m/e 248 [M+H]⁺ (100 %)

DC (Alox): Dichlormethan/MeOH 20/1, R_f-Wert: 0,44

6-Amino-8-(2-furyl)-2-methansulfonyl-purin **9 [nach 174]**

Zu einer auf –10 °C gekühlten Suspension von **8** (0,5 g; 2,0 mmol) in 30 ml Dichlormethan wird unter Argon 1,0 g MCPBA (77 % 3-Chlorperoxy-benzoesäure; 2,2 mmol) in 20 ml Dichlormethan gegeben. Man rührt 5 Tage bei Raumtemperatur (DC-Kontrolle), versetzt anschließend mit 100 ml Essigester und wäscht 2mal mit 40 ml gesättigter Natriumdithionit-Lösung und danach 2mal mit 40 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand mit wenig Methanol aufgenommen und das Sulfon **9** mit etwas Wasser auskristallisiert.

Ausbeute: 0,49 g (1,7 mmol; 85 %)

Schmelzpunkt: wird bei 210 °C gelb, schmilzt bis > 300 °C nicht

¹H-NMR (DMSO): δ 3,32(s; 3H; -SO₂-CH₃); 3,39 (s; 2H; -NH₂); 6,71 (m; 1H; furyl-H4'); 7,27 (s_{br}; 1H; furyl-H3'); 7,93 (s_{br}; 1H; furyl-H5'); 13,86 (s_{br}; 1H; -N9-H).

¹³C-NMR (DMSO): δ 40,20 (-SO₂-CH₃); 112,43 (furyl-C4'); 113,37 (furyl-C3'); 121,19 (C5); 143,68 (C8); 144,88 (furyl-C5'); 145,37 (furyl-C2'); 146,20 (C4); 151,00 (C6); 156,52 (C2).

MS (ESI): m/e 280 [M+H]⁺ (100 %)

DC (SiO): Dichlormethan/MeOH 20/1, R_f-Wert: 0,35

Hexan/Essigester 1/10, R_f-Wert: 0,53

6-Amino-2-methylsulfanyl-9-(2-fluorethyl)-8-(2-furyl)-purin **10a**

Verbindung **8** (1,5 g; 6,0 mmol) wird mit trockenem K₂CO₃ (0,9 g; 7 mmol) und 1-Brom-2-fluorethan (0,52 ml; 0,89 g; 7 mmol) unter Argon in 50 ml trockenem DMF vermischt. Man rührt bei Raumtemperatur für 36 h, versetzt mit dem gleichen Volumen Wasser, und extrahiert 3 mal mit Essigsäureethylester/Diethylether (80/20), trocknet die vereinigten org. Phasen mit Na₂SO₄ und entfernt das Lösungsmittel. Der Rückstand wird mit Essigester aufgenommen und das Produkt mit Hexan auskristallisiert, filtriert und mit 50 ml kaltem Methanol/Wasser-Gemisch (60/40) gewaschen.

Ausbeute: 1,62 g (5,5 mmol; 91 %)

Schmelzpunkt:	199 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,51 (s; 3H; -S-CH ₃); 4,68 (t; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F); 4,86 (dt; 2H; -CH ₂ -F); 6,75 (dd; 1H; furyl-H4'); 7,13 (d; J = 3,3; 1H; furyl-H3'); 7,48 (s; 2H; -NH ₂); 7,95 (d; J = 1,2; 1H; furyl-H5').
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 14,51 (-S-CH ₃); 80,78 (-CH ₂ -N9-); 84,12 (-CH ₂ -F); 112,78 (furyl-C4'); 112,96 (furyl-C3'); 117,18 (C5); 140,64 (C8); 145,34 (furyl-C5'); 145,61 (furyl-C2'); 152,41 (C4); 156,01 (C6); 165,20 (C2).
¹⁹ F-NMR (DMSO):	δ -224,12 (s; 1F)
MS (m/e):	294 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,77

6-Amino-2-methylsulfanyl-9-(3-fluorpropyl)-8-(2-furyl)-purin 10b

Verbindung **8** (1,5 g; 6,0 mmol) wird mit trockenem K₂CO₃ (0,9 g; 7 mmol) und 0,55 ml 1-Brom-2-fluorpropan (0,846 g; 6 mmol) in 50 ml trockenem DMF für 72 h gerührt. Anschließend versetzt man den Ansatz mit dem gleichen Volumen Wasser, extrahiert 3mal mit Essigester/Diethylether (60/40) und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Na₂SO₄. Danach entfernt man das Lösungsmittel, nimmt mit Essigester auf und kristallisiert das Produkt mit Hexan aus, filtriert und wäscht mit 50 ml kaltem Methanol.

Ausbeute:	1,35 g (4,5 mmol; 73 %)
Schmelzpunkt:	193 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,16 (dt; J _{HF} = 27,7; 2H; -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -F); 2,51 (s; 3H; -S-CH ₃); 4,50 (dt; J = 6,7; 2H; -N-CH ₂ -CH ₂ -F); 4,53 (dt; J _{HH} = 5,7; J _{HF} = 47,2; 2H; -CH ₂ -F); 6,75 (dd; 1H; furyl-H4'); 7,12 (d; J = 3,2; 1H; furyl-H3'); 7,44 (s; 2H; -NH ₂); 7,96 (d; J = 1,5; 1H; furyl-H5').
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 14,46 (-S-CH ₃); 31,31 (-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -F); 80,73 (-CH ₂ -N9-); 83,96 (-CH ₂ -F); 112,49 (furyl-C4'); 113,01 (furyl-C3'); 117,15 (C5); 140,36 (C8); 144,88 (furyl-C5'); 145,41 (furyl-C2'); 152,28 (C4); 155,92 (C6); 165,09 (C2).
¹⁹ F-NMR (DMSO):	δ -219,63 (s; 1F)
MS (ESI):	m/e 308 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,53

6-Amino-9-(2-fluorethyl)-8-(2-furyl)-2-methansulfonyl-purin **11a**

Vorschrift analog der Verbindung **9** mit den Einwaagen:

10a (0,3 g; 1,02 mmol)

1,0 g MCPBA (77 % 3-Chlorperoxybenzoesäure; 2,2 mmol).

Man rührt 3 Tage, versetzt anschließend mit 150 ml Essigester/Methanol (2/1) und wäscht 2mal mit 30 ml gesättigter Natriumdithionit-Lösung und danach 2mal mit 30 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand mit wenig Methanol aufgenommen und das Sulfon mit etwas Wasser auskristallisiert.

Ausbeute:	0,27 g (0,83 mmol; 81 %)
Schmelzpunkt:	222 °C Zersetzung
¹ H-NMR (DMSO):	δ 3,35 (s; 3H; -SO ₂ -CH ₃); 4,77 (dd; J _{HF} = 22,7; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -F); 4,92 (dt; J _{HF} = 43,7; J _{HH} = 3,6; 2H; -CH ₂ -CH ₂ -F); 6,80 (dt; 1H; furyl-H4'); 7,29 (d; J = 1,7; 1H; furyl-H3'); 7,98 (d; J = 3,5; 1H; furyl-H5'); 8,15 (s _{br} ; 2H; -NH ₂).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 40,18 (-SO ₂ -CH ₃); 63,60 (-CH ₂ -N-); 83,29 (-CH ₂ -F); 113,23 (furyl-C4'); 113,97 (furyl-C3'); 120,41 (C5); 143,78 (C8); 144,75 (furyl-C5'); 144,88 (furyl-C2'); 146,44 (C4); 150,89 (C6); 156,72 (C2).
¹⁹ F-NMR (DMSO):	δ -224,12 (s; 1F)
MS (ESI):	m/e 326 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _F -Wert: 0,71

6-Amino-9-(3-fluorpropyl)-8-(2-furyl)-2-methansulfonyl-purin **11b**

Vorschrift analog der Verbindung **11a** mit den Einwaagen:

10b (0,3 g; 0,97 mmol)

1,0 g MCPBA (77 % 3-Chlorperoxybenzoesäure; 2,2 mmol).

Ausbeute:	0,28 g (0,83 mmol; 86 %)
Schmelzpunkt:	204 °C Zersetzung
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,13 (dt; 2H; -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -F); 3,38 (s; 3H; -SO ₂ -CH ₃); 3,76 (t; 2H; -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -F); 4,02 (dt; 2H; -CH ₂ -F); 6,78 (dd; 1H;

	furyl-H4'); 7,09 (d; 1H; furyl-H3'); 7,92 (d; 1H; furyl-H5'); 8,15 (s _{br} ; 2H; -NH ₂).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 30,97 (-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -F); 40,11 (-SO ₂ -CH ₃); 65,41 (-CH ₂ -N-); 84,08 (-CH ₂ -F); 112,72 (furyl-C4'); 113,87 (furyl-C3'); 121,50 (C5); 143,75 (C8); 144,81 (furyl-C5'); 144,99 (furyl-C2'); 146,41 (C4); 151,01 (C6); 156,61 (C2).
¹⁹ F-NMR (DMSO):	δ -219,41 (s; 1F)
MS (ESI):	m/e 340 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _f -Wert: 0,79

6-Amino-2-methansulfonyl-9-(2-hydroxyethyl)-8-(2-furyl)-purin **11c**

Vorschrift analog der Verbindung **17c** mit den Einwaagen:

9 (0,5 g; 1,8 mmol)

0,5 g K₂CO₃ (4,1 mmol)

0,46 ml (6,5 mmol) 2-Bromethanol.

Die Umkristallisation des Produktes erfolgt aus Methanol/Wasser.

Ausbeute:	0,45 g (1,4 mmol; 77 %)
Schmelzpunkt:	223 °C Zersetzung
¹ H-NMR (DMSO):	δ 3,24 (s; 3H; -SO ₂ -CH ₃); 3,79 (s _{br} ; 2H; N-CH ₂ -CH ₂ -); 4,53 (s _{br} ; 2H; -CH ₂ -OH); 4,97 (s _{br} ; 1H; -CH ₂ -OH); 6,79 (m; 1H; furyl-H4'); 7,30 (d; J = 3,1; 1H; furyl-H3'); 8,01 (d; J = 1,3; 1H; furyl-H5'); 8,06 (s; 2H; -NH ₂).
¹³ C-NMR (DMSO):	δ 39,97 (-SO ₂ -CH ₃); 47,07 (-CH ₂ -N-); 59,95 (-CH ₂ -OH); 113,12 (furyl-C4'); 114,13 (furyl-C3'); 120,47 (C5); 144,11 (C8); 144,88 (furyl-C5'); 146,21 (furyl-C2'); 150,99 (C4); 156,68 (C6); 160,07 (C2).
MS (ESI):	m/e 324 [M+H] ⁺ (100 %)
DC (SiO):	Dichlormethan/MeOH 20/1, R _f -Wert: 0,52

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der Verbindungen 5a und 6c,d,g durch Substitution der C2-Methansulfonylgruppe (Syntheseweg B) [nach 174]:

Eine Mischung bestehend aus 0,5 mmol 2-Methansulfonyl-purin und 1,48 ml (1,52 g; 50 mmol) 2-(4-Methoxyphenyl)ethylamin in 10 ml DMF werden in einem druckbeständigen verschraubbaren Glas 18 h auf 125 °C erhitzt. Anschließend lässt man auf Raumtemperatur abkühlen, versetzt mit 15 ml 10 % Essigsäure und extrahiert 3mal mit 15 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Säulenchromatographische Reinigung mit Dichlormethan/Methanol (25/1) ergibt folgende Ausbeuten:

5a	21 mg (0,06 mmol; 12 %)
6c	19 mg (0,05 mmol; 10 %)
6d	35 mg (0,09 mmol; 18 %)
6g	40 mg (0,1 mmol; 19 %)

6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-tosyloxyethyl)-purin 12

5a (680 mg; 1,94 mmol), K₂CO₃ (1,3 g; 10 mmol) und Kryptofix® 2.2.2 (150 mg; 0,4 mmol) werden in 25 ml trockenem Acetonitril suspendiert und die Suspension bei 50 °C gerührt. Über eine Spritze werden 740 mg (2,0 mmol) 1,2-bis-Tosyloxyethan in 20 ml Acetonitril zugetropft und die Mischung für 12 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Mischung noch warm filtriert und das Filtrat vom Lösungsmittel befreit. Der kristalline Rückstand wird mit 30 ml Hexan im Wasserbad (50 °C) digeriert, um überschüssiges 1,2-bis-Tosyloxyethan zu entfernen. Anschließend wird erneut filtriert, eingeeengt und säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt (Essigester/Hexan 8/1).

Ausbeute:	940 mg (1,73 mmol; 89 %)
Schmelzpunkt:	238 °C
¹ H-NMR (DMSO):	δ 2,34 (s; 3H; -CH ₃); 2,77 (t; 2H; -CH ₂ -Aryl); 3,39 (m; 2H; -CH ₂ -NH-); 3,73 (s; 3H; -O-CH ₃); 4,48-4,55 (m; 4H; N-CH ₂ -CH ₂ -OTos); 6,41 (t; 1H; -CH ₂ -NH-); 6,70 (dd; 1H; furyl-H4'); 6,88 (d; 2H; tyramin arom.); 6,91-7,04 (m; 3H; furyl-H3' und -NH ₂); 7,13-7,22 (m; 4H; 4 x arom. H); 7,38 (d; 2H; tosyl arom.); 7,85 (d; 1H; furyl-H5').

^{13}C -NMR (DMSO):	δ 21,97 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 35,35 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Aryl}$); 42,71 ($-\text{N}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-$); 44,11 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-NH-}$); 55,83 ($-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 68,32 ($-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-OTos}$); 111,32 (furyl- $\text{C}4'$); 112,69 (furyl- $\text{C}3'$); 113,84 ($\text{C}5$); 114,61 (2 x tyramin arom. C); 127,77 (2 x tosyl arom. C); 130,49 (2 x tyramin arom. C); 130,59 (2 x tosyl arom. C); 132,04 (tosyl arom. C); 132,89 (tyramin arom. C); 138,17 ($\text{C}8$); 144,78 (furyl- $\text{C}5'$); 145,73 (tosyl arom. C); 145,77 (furyl- $\text{C}2'$); 153,28 (C_4); 156,32 (C_6); 158,47 (tyramin arom. C); 159,74 ($\text{C}2$).
MS (ESI):	m/e 549 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100 %)
DC (SiO):	Essigester/Hexan 9/1, Rf-Wert: 0,37 Dichlormethan/MeOH 20/1, Rf-Wert: 0,46

4.3 Bestimmung der Löslichkeiten

Mit Hilfe der HPL-Chromatographie wurden die Untersuchungen der Wasserlöslichkeiten der synthetisierten Verbindungen durchgeführt. Ihre Detektion erfolgte bei 254 nm bei einem Eluentenfluss von 1 ml/min (Säulentyp: Kromasil RP-18, 5 μ (250 mm x 4,6 mm)). Dieses Verfahren basiert darauf, dass unter identischen Chromatographiebedingungen eine lineare Abhängigkeit zwischen den Peakflächen des UV-Signals einer Substanz im Chromatogramm und der auf die Säule aufgegebenen Stoffmenge besteht. Durch Bestimmung des Verhältnisses zweier Peakflächen zueinander kann daher direkt auf das Stoffmengen- bzw. das Konzentrationsverhältnis geschlossen werden. Zur experimentellen Durchführung der Wasserlöslichkeitsbestimmung werden zwei Lösungen der Prüfsubstanz chromatographiert. Die eine mit bekannter Konzentration in einem geeigneten Lösemittel (**L1**) und eine gesättigte Lösung in Wasser (**L2**). Durch das Verhältnis der Peakflächen kann dann die Konzentration der gesättigten Lösung und damit die Wasserlöslichkeit berechnet werden.

Eine Lösung bekannter Konzentration (1 mg/ml) des Liganden in DMSO wurde hergestellt (**L0**). Die Lösung **L0** wird anschließend 1:10 verdünnt (100 μl **L0** und 900 μl DMSO) und 3 Minuten geschüttelt (Vortexer Stufe 6). Man erhält Lösung **L1** (Konzentration 0,1 mg/ml).

Um eine gesättigte wässrige Lösung des Liganden zu erhalten werden 4 μl der Lösung **L0** (entspricht 4 μg) in 996 μl Wasser pipettiert. Diese Mischung wird für 3 Minu-

ten im Ultraschallbad behandelt und dann 30 Minuten geschüttelt (Vortexer Stufe 6). Anschließend wird die Lösung bei 20.000 g und Raumtemperatur 5 Minuten zentrifugiert. 550 µl des Überstandes werden vorsichtig in ein neues Vial überführt. Man erhält eine gesättigte wässrige (0,4 % DMSO) Lösung des Liganden (**L2**).

Von Lösung **L1** werden 10 µl (entspricht 1 µg) chromatographiert und das Signal wird integriert (I_{100}).

Von Lösung **L2** werden 250 µl chromatographiert und das Signal integriert. Zur Mittelwertbildung wird **L2** dreimal angesetzt, chromatographiert und aus den Ergebnissen der Mittelwert der Peakflächen I_x gebildet (I_x entspricht 1 µg Substanz bei vollständiger Lösung in Wasser).

Die Wasserlöslichkeit der untersuchten Verbindungen lässt sich dann über folgenden Zusammenhang berechnen:

$$\frac{4 \cdot I_x}{I_{100}} = \text{Löslichkeit } [\mu\text{g/ml}]$$

Tabelle 4.3.1: Ergebnisse der Bestimmung der Wasserlöslichkeit nach der HPLC/UV-Methode

Ligand	M [g/mol]	Eluent (Methanol/Wasser)	k'	I_{100}	I_x	Löslichkeit [µg/mL]	Löslichkeit [µmol/L]
5a	350,37	60/40 (0,2 % DEA)	1,52	3223	2490	3,09	8,82
5b	386,45	70/30	7,60	2071	63	0,12	0,31
5c	284,32	60/40 (0,2 % DEA)	1,57	1640	1765	4,30	15,14
6a	364,40	60/40 (0,2 % DEA)	15,84	1967	747	1,52	4,17
6b	400,48	80/20 (0,4 % DEA)	3,43	2383	173	0,29	0,73
6c	394,43	80/20 (0,4 % DEA)	0,88	2238	1610	2,88	7,30
6d	396,42	80/20 (0,4 % DEA)	1,42	1184	198	0,67	1,69
6e	432,49	80/20 (0,4 % DEA)	2,80	1932	6	0,01	0,03
6f	330,36	60/40 (0,2 % DEA)	3,84	1613	1446	3,59	10,85
6g	410,44	80/20 (0,4 % DEA)	2,03	1855	15	0,03	0,08
6h	382,39	60/40 (0,2 % DEA)	1,62	2012	1407	2,80	7,32
6i	508,29	70/30	2,15	1511	10	0,03	0,05
6j	409,25	70/30	2,23	485	36	0,30	0,73
6k	376,16	80/20 (0,2 % DEA)	5,18	644	53	0,33	0,88

4.4 Trägerarme Radiosynthesen

4.4.1 Bezug und Produktion der verwendeten Radionuklide

Das verwendete Iod-131 wurde von der Firma Amersham Buchler, Braunschweig (Produktname IBS.30) bezogen und ist erhältlich als Natrium[^{131}I]iodidlösung (NaOH-Lösung pH 7-11) in spezifischen Volumenaktivitäten von 1,48 GBq/ml (40 mCi/ml).

Die Produktion des bei den Markierungen eingesetzten n.c.a. [^{18}F]Fluorids erfolgt routinemäßig am Babyzyklotron BC 1710 (JSW) des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH. Durch Bestrahlung eines mit H_2^{18}O befüllten Titantargets wird über die $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ Kernreaktion das Radiofluorid gewonnen. Das Target, die Durchführung der Bestrahlung und die Isolierung des n.c.a. [^{18}F]Fluorids sind in der Literatur im Detail beschrieben [17, 196]. Diese Methode erlaubt bei Strahlströmen von 25 μA und Protonenenergien von 17 MeV innerhalb einer Stunde eine Produktion von über 55 GBq (1,5 Ci) n.c.a. [^{18}F]Fluorid.

Der verwendete Kohlenstoff-11 wird ebenfalls routinemäßig am Babyzyklotron BC 1710 (JSW) des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH über die $^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$ Kernreaktion hergestellt und als [^{11}C]CO₂ erhalten. Weiterführende Informationen zur Produktion von ^{11}C wie Targetbau, Anregungsfunktion etc. finden sich bei Qaim *et al.* [17].

4.4.2 Markierungen mit Iod-131

1,5 mg (3,9 μmol) des Vorläufers **6h** werden in 1,5 ml Acetonitril gelöst (Konzentration: 2,6 mmol/l). Anschließend werden 100 μl dieser Lösung mit 900 μl Fluka-Phosphatpuffer pH = 7 (Katalog Nr.: 82561) verdünnt (neue Konzentration 0,26 mmol/l). 50 μl (13 nmol) dieser Vorläuferlösung werden mit 10 μl einer Chloramin-T Lösung (15 mg/10 mL Wasser) versetzt und etwa 4,86 MBq (100 μCi) wässrige ^{131}I -Iodidlösung zugegeben. Nach einer Reaktionszeit von 2 Minuten wird die Reaktionslösung mit 150 μl des HPLC-Eluens (70/30 Methanol/Wasser) versetzt und der komplette Ansatz auf die Säule aufgegeben. Eluent ist Methanol/Wasser 70/30 ($k'_{(6h)} = 0,94$; $k'_{(6i)} = 2,15$).

4.4.3 Markierungen mit Fluor-18

Allgemeine Vorschrift zur nukleophilen Substitution mit n.c.a. [^{18}F]Fluorid.

18,5-37 GBq (0,5-1 mCi) einer wässrigen n.c.a. [^{18}F]Fluorid-Lösung werden mit 10 mg (26,6 μmol) Kryptofix[®] 2.2.2, 12 μl (12 μmol) einer 1M Kaliumcarbonat-Lösung in 700 μl absolutem Acetonitril (für DNA-Synthesen, Merck) zur azeotropen Trocknung in ein konisch zulaufendes Reaktionsgefäß (Reactivial; 3-5 ml) mit Magnetrührstäbchen gegeben. Der Reaktor wird über eine Kappe mit Silikonseptum verschlossen. Zwei Kanülen führen durch das Septum, eine als Argonzuleitung und die andere als Vakuumanschluss. Die Lösung wird bei 80-85 °C unter einem Argongasstrom und einem Druck von 750-850 mbar getrocknet. Dieser Trocknungsschritt wird mindestens dreimal mit jeweils 700 μl Acetonitril wiederholt, bevor zur vollständigen Trocknung das Reaktionsvial 5 Minuten evakuiert wird. Nach Begasung des Reaktors mit Argon wird die gewünschte Reaktionstemperatur für die folgende Substitutionsreaktion eingestellt und das jeweilige Edukt in 750 μl des entsprechenden Lösungsmittels zugegeben. Zur Optimierung der ^{18}F -Fluorierung werden die Reaktionsparameter Temperatur, Lösungsmittel und Eduktkonzentration variiert. Zur Reaktionskontrolle werden im Verlauf der Reaktion Aliquots von 10 μl entnommen, mit ca. 100 μl Acetonitril verdünnt und zur Bestimmung der Zeitabhängigkeit der radiochemischen Ausbeute dünnschichtchromatographisch analysiert. Die Optimierungsreaktionen wurden mindestens 3mal durchgeführt. Die angegebenen radiochemischen Ausbeuten entsprechen den Mittelwerten, die Fehler den Standardabweichungen.

4.4.4 Markierungen mit Kohlenstoff-11

Die Darstellung von [^{11}C]CH₃I aus [^{11}C]CO₂ erfolgt on-line in der in Abbildung 4.4.1 schematisch dargestellten Apparatur.

Bei diesem von Holschbach und Schüller [197] entwickelten Verfahren wird das im Target entstandene [^{11}C]CO₂ in einer auf -170 °C gekühlten Kühlfalle aus dem Stickstoffstrom ausgefroren. Anschließend wird die Kühlfalle auf -50 °C erwärmt und das [^{11}C]CO₂ im Heliumstrom durch 40 μl , einer ebenfalls auf -50 °C temperierten, 0,2 M LiAlH₄-THF-Lösung geleitet. Sodann wird diese Mischung auf 100 °C erwärmt, wobei das THF im Heliumstrom entfernt wird und gleichzeitig die Reduktion des [^{11}C]CO₂ stattfindet. Nach der kompletten Entfernung des THF werden 120 μl 0,1 M Phosphorsäure zugege-

ben und das dabei entstehende [^{11}C]Methanol im Heliumstrom aus dem Reaktionsgefäß destilliert. Die Reaktion zu [^{11}C]Methyliodid erfolgte durch Festphasenreaktion des [^{11}C]Methanol in einer Triphenylphosphindiiodid auf γ -Aluminiumoxid enthaltenden Kolonne bei 175 °C. Das so dargestellte [^{11}C]Methyliodid wurde zur Trocknung durch eine zweite, Natriumhydroxid und Phosphorpentoxid enthaltende Kolonne destilliert, bevor es in ca. 1 ml DMF bei -20 °C aufgefangen wurde. Mit dieser Methode können mit einer radiochemischen Reinheit von $> 90 \pm 2 \%$ und einer spezifischen Aktivität von 222.000 GBq/mmol (6000 Ci/mmol) innerhalb von 11 Minuten Aktivitäten an [^{11}C]Methyliodid von bis zu 29,6 GBq (800 mCi) erreicht werden.

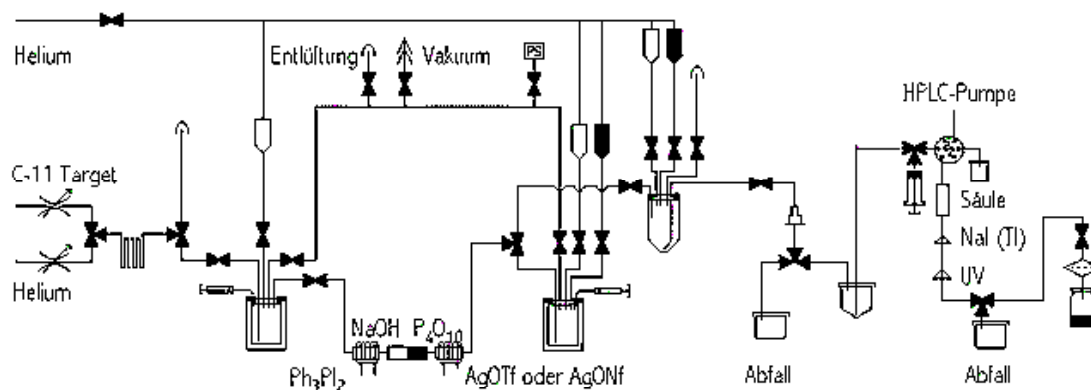


Abb. 4.4.1: Schematische Skizze der Apparatur zur Darstellung von [^{11}C]CH₃I [aus 198]

Zur n.c.a Methylierung werden 350,37 μg (1 μmol) des Vorläufers **5a** und 2 μmol der Base in 300 μl DMF gelöst und in einem ausgeheizten (120 °C), mit Argon gespülten Reaktionsvial (Volumen: 3 ml) vorgelegt. Anschließend wird das Vial im Ölbad 5 Minuten bei 80 °C temperiert, bevor 100 μl der [^{11}C]Methyliodid-DMF-Lösung zugegeben werden. Nach der erforderlichen Reaktionszeit beendet man die Reaktion durch Zugabe von 100 μl des HPLC-Laufmittels. Im Anschluss erfolgte die Analyse der Probe über Radio-HPLC.

Eluent: 80/20 Methanol/Wasser + 0,2 % DEA, ($k'_{(6a)} = 1,34$; $k'_{(5a)} = 0,16$; $k'_{(\text{Methyliodid})} = 0,85$)

4.5 Radioanalytik

Zur Identifizierung und Reinigung der Markierungsprodukte und zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten wurden sowohl die Radio-Dünnschichtchromatographie als auch die Radio-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (Radio-HPLC) verwendet.

4.5.1 Radiodünnschichtchromatographie

Die Radio-Dünnschichtchromatographie wurde zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten der ^{18}F -Markierung von 9-(2-[^{18}F]Fluorethyl)-8-furan-2-yl- N^2 -[2-(4-methoxy-phenyl)-ethyl]-9H-purin-2,6-diamin [^{18}F]**6d** verwendet. Das Auftreten von flüchtigen, radioaktiven Nebenprodukten bei den Synthesen kann ausgeschlossen werden, da bei allen Versuchen eine Aktivitätsbilanz erstellt wurde und der Aktivitätsanteil der Reaktionslösungen und Reaktionsgefäße immer wenigstens 98 % der eingesetzten Aktivität entsprach.

Zur dünnschichtchromatographischen Analyse wurden ca. 1,5 μl der jeweiligen Reaktionslösung auf die mit Kieselgel beschichteten Folien (Macherey & Nagel Polygram SIL G/UV₂₅₄ 40x80 mm) aufgetragen und mit Dichlormethan/Methanol (20/1) entwickelt. [^{18}F]Fluorid verbleibt unter diesen Bedingungen am Startfleck. Die Dünnschichtchromatogramme wurden anschließend mit einem computergestützten Autoradiographiesystem (Packard Instruments Company, Model Instant ImagerTM) ausgewertet.

4.5.2 Radio-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Analytische Radio-HPLC wurde zur Bestimmung der radiochemischen Ausbeuten und spezifischen Aktivitäten der ^{131}I , ^{11}C und ^{18}F -Markierungsprodukte verwendet. Die verwendete Anlage bestand aus einer HPLC-Pumpe (Merck Hitachi L6000), einem UV/VIS-Detektor (Merck Hitachi L4200) mit variabler Wellenlänge und einem NaI(Tl)-Bohrlochkristalldetektor mit Photomultiplier (\varnothing 8 cm, EG & G Ortec, Modell 276 Photomultiplier Base) und dazugehörigem Verstärker (EG & G Ortec, Modell 925 Scint, ACE Male). Photometer und Radioaktivitätsdetektor sind über einen Analog/Digital-Wandler mit einem Computer verbunden, so dass die Datenverarbeitung rechnergestützt möglich

ist. Die Probenaufgabe erfolgte über ein Injektionsventil (Rheodyne, Typ 7125) mit einer 200 µl oder 1000 µl Probenschleife.

Die analytischen HPLC-Trennungen erfolgten unter isokratischen Bedingungen an einer RP-Trennsäule des Typs Kromasil RP-18 (5µ; 250 mm x 4,6 mm; CS-Chromatographie Service GmbH, Deutschland). Der Eluentenfluss betrug immer 1 ml/min. In Tabelle 4.5.1 sind die jeweiligen Chromatographiebedingungen und k' -Werte der Referenzverbindungen zur co-chromatographischen Identifizierung der Markierungsprodukte aufgelistet.

Tabelle 4.5.1: Chromatographiebedingungen und k' -Werte der Markierungsprodukte

Verbindung	Eluent	k' -Wert
[^{18}F]6d	65/35 Methanol/Wasser +0,2 % Diethylamin	7,23 ¹⁾
[^{131}I]6i	70/30 Methanol/Wasser	2,15 ²⁾
[^{11}C]6a	80/20 Methanol/Wasser +0,2 % Diethylamin	1,34 ³⁾

4.5.3 Bestimmung der spezifischen Aktivitäten

Die Bestimmung der spezifischen Aktivität der n.c.a. markierten Liganden [^{18}F]6d, [^{131}I]6i und [^{11}C]6a erfolgt mittels HPL-Chromatographie. Dabei wird davon ausgegangen, dass die Stoffmenge des „kalten“ Standards proportional zu dem erhaltenen Integral des UV-Signals ist. Durch Korrelation der Peakfläche mit definiert eingesetzten Stoffmengen erhält man eine Eichgerade, anhand derer eine Bestimmung der Stoffmenge bei bekannter Peakfläche möglich wird. Die Eichgeraden der einzelnen Verbindungen sind in den Abbildungen 4.5.1-4.5.3 dargestellt, die Messungen erfolgten jeweils immer mit demselben Eluenten der auch bei der Radio-HPLC verwendet wurde (s.o.).

Aus der in Abb. 4.5.1 dargestellten Eichgerade ließ sich die spezifische Aktivität einer Präparation von 28 mCi (1036 MBq) [^{11}C]6a zu 46,6 GBq/µmol (1260 Ci/µmol) bestimmen (EOS).

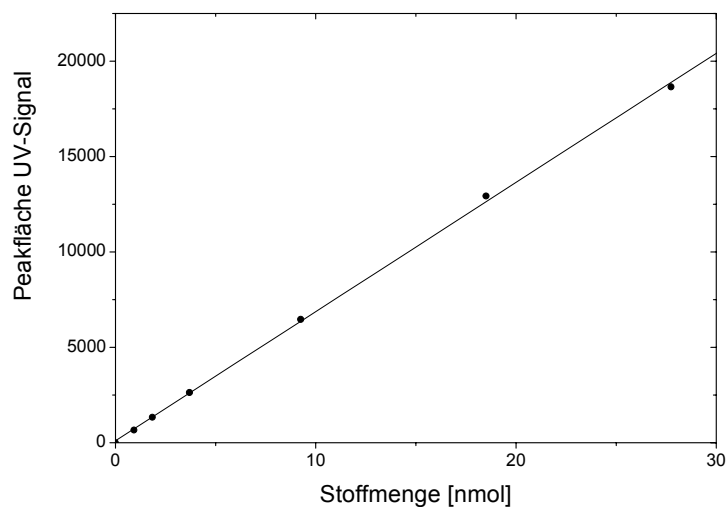


Abb. 4.5.1: Abhängigkeit des Integrals des UV-Signals von der Stoffmengen von **[¹¹C]6a** zur Bestimmung der spezifischen Aktivität.

Anhand des Integrals des UV-Signals einer Präparation von 22,2 MBq (600 μ Ci) 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-[¹⁸F]fluorethyl)-purin **[¹⁸F]6d** konnte für die spezifische Aktivität ein Wert von 63 GBq/ μ mol (1,7 Ci/ μ mol) berechnet werden (EOS).

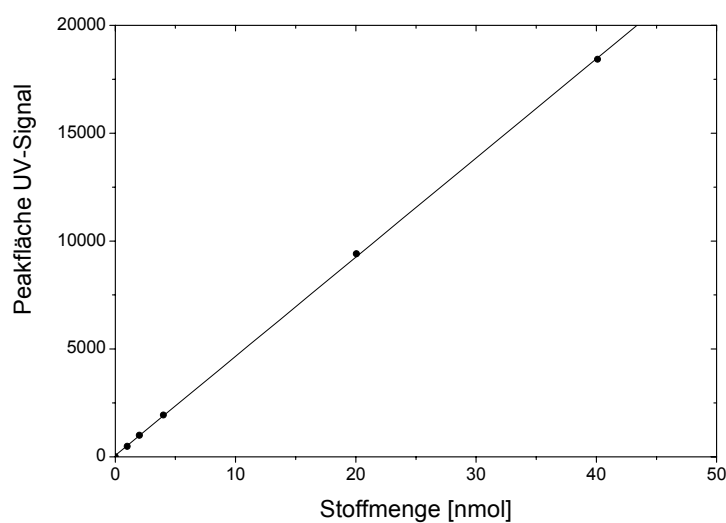


Abb. 4.5.2: Eichgerade zur Bestimmung der spezifischen Aktivität von **[¹⁸F]6d**.

Anhand der Eichwerte konnte für die spezifische Aktivität von [^{131}I]6i ein Wert von 962 GBq/mmol (26 Ci/mmol) berechnet werden.

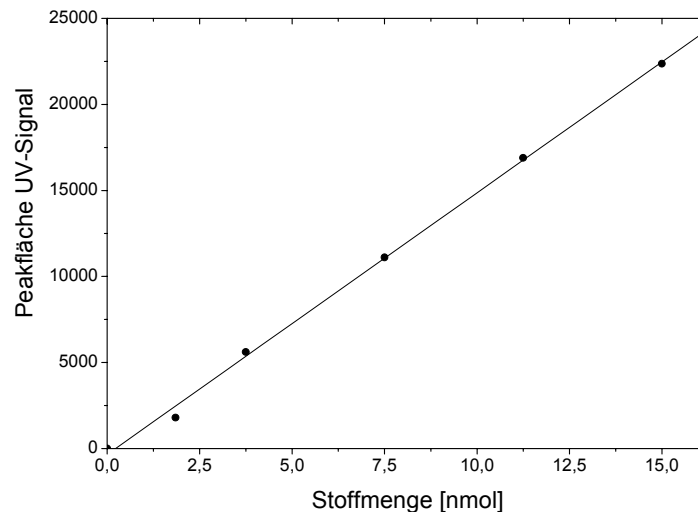


Abb. 4.5.3: Peakfläche des UV-Signals als Funktion der Stoffmenge von [^{131}I]6i zur Bestimmung der spezifischen Aktivität.

4.6 Rezeptorbindungsstudien

Die Rezeptorbindungsstudien wurden in Zusammenarbeit mit der Radiopharmakologiegruppe des Instituts für Nuklearchemie durchgeführt. *Corpora striata* (für A_{2A} -Adenosinrezeptorstudien) und *frontale cortices* (für A_1 -Adenosinrezeptorstudien) wurden aus Schweinehirnen präpariert. Das erhaltene Gewebe wurde in dem 20-fachen Volumen eiskaltem 50 mM TRIS-HCl-Puffer (pH 7,4) mit 10 mM MgCl_2 , Sojabohnen Trypsin Inhibitor (20 $\mu\text{g/ml}$), Bacitracin (200 $\mu\text{g/ml}$) und Benzamidine Hydrochlorid (160 $\mu\text{g/ml}$) mit einem Ultra Turrax bei 20.000 rpm homogenisiert. Das Homogenat wurde bei 48.000 g und 4 °C für 10 Minuten zentrifugiert (Beckmann Optima L, SW41Ti Rotor). Der resultierende Niederschlag wurde in dem 20-fachen Volumen 50 mM TRIS-HCl-Puffer-Lösung (pH 7,4), die zusätzlich Adenosindeaminase (2 U/ml) und Trypsin Inhibitor (20 $\mu\text{g/ml}$) enthält, aufgelöst und die erhaltene Lösung für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Nochmalige Zentrifugation für 10 Minuten bei 48.000 g und 4 °C ergibt einen Rückstand,

welcher in dem 50-fachen Volumen 50 mM TRIS-HCl-Puffer-Lösung (pH 7,4) mit 10 mM MgCl_2 aufgelöst wird. 1 ml Aliquots dieses Homogenates werden bei $-80\text{ }^\circ\text{C}$ aufbewahrt. Die Durchführung der Assays erfolgte jeweils in dreifacher Ausführung, indem die Aliquots der Membranfraktionen (87 μg Protein/Assay für A_1 -, 68 μg Protein /Assay für $\text{A}_{2\text{A}}$ -Studien) mit in TRIS-HCl-Puffer (pH 7,4) gelöster Adenosindeaminase (2 U/ml) inkubiert werden. Die Inkubationsdauer betrug 60 Minuten bei einer Temperatur von $20\text{ }^\circ\text{C}$ in einem Gesamtvolumen von 200 μl .

In $\text{A}_{2\text{A}}$ AR Verdrängungsstudien wurde [^3H]CGS21680 ($\text{A}_{2\text{A}}$ AR Agonist, $K_D = 26\text{ nM}$) in Konzentrationen von 5 nM und in A_1 AR Verdrängungsstudien [^3H]CPFPX (A_1 AR Antagonist, $K_D = 0,62\text{ nM}$) in Konzentrationen von 2 nM eingesetzt. Zur Trennung von gebundenem und freiem Liganden wurde das Homogenat bei 48.000 g für 6 Minuten bei einer Temperatur von $8\text{ }^\circ\text{C}$ zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend jeweils verworfen und der Niederschlag mit 1 ml eiskaltem Puffer gewaschen und durch inkubieren mit SolvableTM (500 μl , Canberra-Packard) für 120 Minuten bei $50\text{ }^\circ\text{C}$ gelöst. Aliquots von 450 μl wurden in Szintillationsgefäße mit 10 ml Szintillationscocktail (Ultima Gold XR, Canberra-Packard) überführt. Die Radioaktivität wurde anschließend im Flüssigszintillationszähler bestimmt.

Die Proteinbestimmung erfolgte mit einem kommerziellen Assay (Bio-Rad DC Protein Assay), wobei Humanserum Albumin als Standard genutzt wurde. Die Bindungsparameter K_i , K_D und IC_{50} wurden mit computergestützter nichtlinearer Regression (GraphPad Prism, Version 3.0) ermittelt.

4.7 Autoradiographische Untersuchungen

Die Autoradiographien wurden von der Radiopharmakologiegruppe des Instituts für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH durchgeführt und werden hier der Vollständigkeit halber aufgeführt.

Auf $-20\text{ }^\circ\text{C}$ tiefgefrorene Rattenhirne wurden mit einem Mikrotom horizontal in Scheiben mit einer Dicke von 20 μm geschnitten (Leica AG Microsystems, Deutschland) welche anschließend auf mit Gelatine beschichteten Objektträgern (Laboroptik GmbH, Deutschland) aufgebracht wurden. Die so präparierten Hirnschnitte wurden bei einer Temperatur von $4\text{ }^\circ\text{C}$ getrocknet und bei $-80\text{ }^\circ\text{C}$ bis zu ihrer Verwendung gelagert.

Für die Autoradiographien wurden diese Schnitte zunächst für 15 Minuten bei einer Temperatur von 37 °C mit einer aus Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7,4), EDTA (1 mM) und Adenosindeaminase (0,2 U/ml) bestehenden Lösung vorbehandelt. Anschließend wurden die Schnitte 2mal jeweils 5 Minuten bei 23°C mit Tris-HCl Puffer (50 mM), der zusätzlich noch MgCl_2 (10 mM) enthält, gewaschen, bevor sie für 60 Minuten bei 23 °C in dem selben Puffer (plus 0,2 U/mL Adenosindeaminase) mit dem Radioliganden inkubiert wurden. [^{131}I]6i oder [^{18}F]6d wurden dazu in nanomolaren Konzentrationen entweder allein (zur Bestimmung der Totalbindung) oder zusammen mit ZM241385 (5 μM bzw. 10 μM zur Bestimmung der unspezifischen Bindung) zugegeben. Nach der Inkubation wurden die Präparate 2mal für 10 Minuten in Tris-HCl (50 mM) bei einer Temperatur von 4 °C gewaschen, kurz mit entsalztem Wasser abgespült und in einem kalten Luftstrom getrocknet. Zur Bestimmung der Aktivitätsverteilung wurden die Präparate auf eine "phosphor image plate" (Fujifilm) gelegt und 90 Minuten entwickelt. Die Auswertung der Filmplatten erfolgte anschließend mit einem Laser Scanner (Phosphor Imager BAS 5000, Fujifilm), der zugehörigen Software des Imagers (Version 2.11a, Raytest Isotopenmeßgeräte, Germany) und einem Bildanalyseprogramm (AIDA 3.10, Raytest Isotopenmeßgeräte, Germany).

Kapitel 5

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, die Verwendbarkeit von 6-Aminopurin als Leitstruktur für mögliche neue A_{2A} -selektive PET-Radiotracer eingehender zu untersuchen. Hierzu wurden mehrere in den Positionen 2, 8 und 9 unterschiedlich substituierte 2,6-Diaminopurinderivate synthetisiert, ihre Rezeptoraffinität zu den *high affinity* Adenosinrezeptor-subtypen A_1 und A_{2A} bestimmt und das Struktur-Aktivitäts-Profil des A_{2A} -Adenosinrezeptors somit erweitert. Zusätzlich wurde der logP-Wert dieser Verbindungen berechnet sowie ihre Wasserlöslichkeit bestimmt. Die Ausarbeitung optimaler Markierungsbedingungen für einige neu erhaltene, selektive und affine Liganden mit den Radionukliden Kohlenstoff-11, Fluor-18 und Iod-131 in hohen radiochemischen Ausbeuten und spezifischen Aktivitäten war erfolgreich. Eine *in vitro* Evaluierung der markierten Liganden an Hirnschnitten erfolgte zur Bestimmung der Anreicherung im Zielgewebe und des Ausmaßes der unspezifischen Bindung.

Die Synthese N^2 -, N9 und C8 unterschiedlich substituierter 2,6-Diaminopurine gelang ausgehend von 4,6-Diamino-2-methylmercapto-5-nitrosopyrimidin nach Reduktion zum entsprechenden Triaminopyrimidin durch Kondensation mit Carbonsäurederivaten. Die Einführung des N^2 -Substituenten konnte entweder vor der Reduktion (Methode A) durch Substitution der Methylmercaptofunktion an Pyrimidinen, oder im Anschluss an die Purinbildung durch Substitution des durch Oxidation erhaltenen Methansulfonyls (Methode B), mit Aminen erfolgen. In Anlehnung an das Struktur-Aktivitätsprofil bekannter A_{2A} -selektiver Liganden wurden als N^2 -Substituenten 2-(4-Methoxyphenyl)-ethylamin und 2-(4-Hydroxyphenyl)-ethylamin verwendet. Die Iodierung von 2-(4-Hydroxyphenyl)-ethylamino substituierten Purinen zu 2-(4-Hydroxy-3-iodphenyl)-ethylaminopurinen ergab die Standardverbindung für einen iodierten Radioliganden. Über das Säurederivat wird bei der Kondensation der C8 Substituent des Purins bestimmt. So wurden durch Verwendung von Formamid an C8 unsubstituierte Purine und über entsprechende Imidate Styryl- und 2-Furyl-Reste eingeführt. Eine zusätzliche Derivatisierung der Position 8

wurde durch selektive Bromierung dort nicht substituierter 2,6-Diaminopurine mit NBS erreicht. Durch Alkylierung des N9-Amins mit Methyl-, 2-Fluorethyl-, 3-Fluorpropyl-, und 2-Hydroxyethylbromiden konnten weitere Variationen der Leitstruktur erhalten und somit gleichzeitig Standardverbindungen für Fluor-18 oder Kohlenstoff-11 markierte Radioliganden synthetisiert werden.

Über diese Synthesewege wurden insgesamt dreizehn Derivate der Leitstruktur synthetisiert, wobei die auf 4,6-Diamino-2-methylmercapto-5-nitrosopyrimidin als Ausgangssubstanz bezogenen Ausbeuten bei Verwendung der fünfstufigen Methode A zwischen 17 und 55 % lagen. Nur die Synthese der iodierten Verbindung verlief aufgrund einer konkurrierenden Zweitsubstitution mit schlechteren Ausbeuten von ca. 6 %. Methode B ergab wegen des zusätzlich notwendigen Oxidationsschrittes generell geringere Gesamtausbeuten von 3 bis 6 %. Sie stellt aber trotzdem einen alternativen Weg dar; vor allem wenn der N²-Substituent empfindlich gegenüber reduktiven Bedingungen ist.

Die Bindungseigenschaften der synthetisierten Verbindungen wurden mittels *in vitro* Verdrängungsstudien an corticalen (A₁-Adenosinrezeptoren) und striatalen (A_{2A}-Adenosinrezeptoren) Membranpräparationen aus Schweinehirnen durch Verdrängung der entsprechend selektiven Radioliganden [³H]CPFPX und [³H]CGS21680 bestimmt. Es zeigte sich, dass eine Methylierung des Purin N9 Amins die Affinität gegenüber dem A_{2A}-Adenosinrezeptor im Vergleich zum in dieser Position unsubstituierten Amin ungefähr um den Faktor 10 verbessert. Eine 2-Fluorethylierung oder 2-Hydroxy-ethylierung der N9-Position ergeben ähnlich affine Verbindungen, jedoch verringert sich die Selektivität leicht. Größere Substituenten wie 3-Fluorpropylreste verringern die A_{2A}AR Affinität um mehr als das 10fache. In der Purin 8-Position hat sich ein 2-Furylrest als günstigster Substituent herausgestellt. Vergleichbare Affinität konnte hier nur das entsprechende Bromderivat aufweisen. Der sterisch anspruchsvolle und lipophile Styrylrest verringerte die A_{2A}-Affinität deutlich und ergab weniger affine Liganden als in dieser Position unsubstituierte Purine. Ob die Hydroxyfunktion des Tyraminrestes in Position 2 der Leitstruktur methyliert war oder nicht, war ohne entscheidende Auswirkung auf Affinität und Selektivität der Liganden. Auch die Iodierung des Tyraminaromaten veränderte die Affinität der Verbindung kaum.

Die höchste Selektivität (1000fach) bei einer Affinität von 25 nM zeigte 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-methyl-purin (**6a**). Durch die Darstellung von 6-Amino-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin (**6d**) (K_i = 25 nM) gelang es einen vergleichbar affinen, Fluor enthaltenden Liganden darzustel-

len, der ebenfalls hochselektiv ist (300fach). Die höchste Affinität wies mit einem K_i von 21 nM 6-Amino-2-[2-(4-hydroxy-3-iodphenyl)ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin (**6i**) auf, wodurch ein potentieller Radioiodtracer zur Evaluierung zur Verfügung stand.

Die logP-Werte der Verbindungen wurden als Maß für ihre Lipophilie berechnet. Die Lipophile der hochaffinen Verbindungen ist von **6c** (6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-hydroxyethyl)-purin) mit 3,17 am niedrigsten und mit 4,73 von Verbindung **6i** am größten. Die Wasserlöslichkeit der synthetisierten Purinderivate wurde experimentell bestimmt. Es zeigte sich, dass die Löslichkeiten der meisten synthetisierten affinen Liganden zwischen 1,7 und 7,5 μ M lagen. Der BF-Index (Verhältnis Löslichkeit zu A_{2A} -Affinität) war für einige dieser Verbindungen weit größer als der für *in vivo* Anwendungen als Mindestvoraussetzung postulierte Faktor von 100. Er war mit 348 am größten für **6c**.

Von den neu dargestellten Liganden wurden **6a**, **6d** und **6i** als Standardverbindungen für potentielle Radiotracer ausgewählt und die optimalen trägerarmen Markierungsbedingungen zur Synthese von [^{11}C]**6a**, [^{18}F]**6d** und [^{131}I]**6i** ausgearbeitet. Zur Darstellung von n.c.a. [^{18}F]**6d** wurde 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-tosyloxyethyl)-purin als Markierungsvorläufer dargestellt. Die Aminopolyether-gestützte nukleophile Radiofluorierung des Tosylates mit n.c.a. [^{18}F]KF (Kryptofix 2.2.2/ K_2CO_3) ergab unter optimalen Reaktionsbedingungen den Radioliganden in einer radiochemischen Ausbeute von 70 ± 5 % und einer spezifischen Aktivität von $> 62,9$ GBq/ μ mol ($> 1,7$ Ci/ μ mol). Die Radiofluorierung und radiochromatographische Isolierung des Liganden dauerte im Durchschnitt 30 Minuten.

Unter Verwendung von Chloramin-T als Oxidationsmittel konnte 6-Amino-2-[2-(4-hydroxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin (**6h**) mit [^{131}I]Iodid elektrophil radioiodiert werden. 6-Amino-2-[2-(4-hydroxy-3-[^{131}I]iodphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-(2-fluorethyl)-purin ([^{131}I]**6i**) wurde nach einer Reaktionszeit von 2 Minuten mit einer radiochemischen Ausbeute von 71 ± 9 % und einer spezifischen Aktivität von 962 GBq/mmol (26 Ci/mmol) nach radiochromatographischer Aufreinigung erhalten.

Die Methylierung des N9-Amins von 6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9H-purin mit [^{11}C]Methyliodid unter basischen Bedingungen (NaH) in DMF bei Raumtemperatur ergab den Radioliganden [^{11}C]**6a** (6-Amino-2-[2-(4-methoxyphenyl)-ethyl]amino-8-(2-furyl)-9-[^{11}C]methyl-purin) in radiochemischen Ausbeuten von ca. 60 %. Hierbei konnten spezifische Aktivitäten von $> 22,3$ GBq/mmol (> 630 Ci/mmol) erreicht

werden. Inklusive der chromatographischen Abtrennung des Radioliganden lag die Synthesedauer knapp unter 15 Minuten.

Eine *in vitro* Evaluierung der markierten A_{2A} AR Antagonisten [^{131}I]6i und [^{18}F]6d erfolgte durch autoradiographische Untersuchungen von Schnitten von Rattenhirnen. Keine der markierten Verbindungen zeigte bei diesen Studien eine Anreicherung im Striatum, einer Hirnregion mit hoher A_{2A} AR Dichte. Das Autoradiogramm in Gegenwart des unmarkierten A_{2A} AR Antagonisten ZM 241385 war identisch mit dem der Totalbindung. Dies spricht dafür, dass eine unspezifische Wechselwirkung der Radioliganden die durch *in vitro* Verdrängungsstudien nachgewiesene spezifische Bindung am A_{2A} AR überlagert. Weiterführende Durchführungen von ex vivo Tierversuchen waren aufgrund dieser Ergebnisse nicht angezeigt.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die synthetisierten 6-Aminopurinderivate nicht geeignet sind, um als PET-Tracer in der Hirndiagnostik A_{2A} AR-Dichten zu bestimmen. Sie binden zwar *in vitro* affin und selektiv an den A_{2A} AR und lassen sich in ausreichenden radiochemischen Ausbeuten und spezifischen Aktivitäten markieren, ihre Anreicherung in Geweben mit hoher A_{2A} AR-Dichte ist jedoch aufgrund einer sehr hohen unspezifischen Bindung nicht gegeben.

Literatur

- [1] de Hevesy, G.; Paneth, F. Die Löslichkeit des Bleisulfids und Bleichromats. *Zeit. Anorg. Chem.* **1913**, 82, 322.
- [2] de Hevesy, G. The Absorption and Translocation of Lead by Plants. *Biochem. J.* **1923**, 17, 439.
- [3] Schütte, H.: Medizinische Isotope in der organischen Chemie und Biochemie, Verlag Chemie Weinheim, **1996**.
- [4] Cooper T.G.: *The Tools of Biochemistry*, John Wiley & Sons, New York, **1986**.
- [5] Ache, H.J. Chemie des Positrons und Positroniums. *Angew. Chemie* **1972**, 84, 234-255.
- [6] Wienhard, K.; Wagner, R.; Heiss, W.D.: PET-Grundlagen und Anwendungen der Positronen-Emissions-Tomography. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg **1989**.
- [7] Phelps, M.E.; Mazziotta, J.; Schelbert, H.: Positron emission tomography and autoradiography; Raven Press, New York **1986**.
- [8] McCarthy, T.J.; Schwarz, S.W.; Welch, M.J. Nuclear medicine and positron emission tomography: An overview. *J. Chem. Educ.* **1994**, 71, 830-836.
- [9] Ter-Pogossian, M.M.; Raichle, M.E.; Sobel, B.E. Tomographie mit radioaktiv markierten Substanzen; *Spekt. der Wissenschaften* **1980**, 12, 120-133.
- [10] Schicha, H.; Schober, O. Kompendium der Nuklearmedizin, Schattenauer Verlag, Stuttgart, **1991**.
- [11] Stöcklin, G. Emissions-Computertomographie mit kurzlebigen zyklotronproduzierten Radionukliden. In: Handbuch der medizinischen Radiologie, Band 15/1B, Springer Verlag, **1989**.
- [12] Coenen, H.H. Radiopharmazeutische Chemie: Grundlagen zur in-vivo Untersuchung molekularer Vorgänge mit PET. in: *Der Nuklearmediziner* 17, **1994**, 203.
- [13] Pagani, M.; Stone-Elander, S.; Larsson, S.A. Alternative positron emission tomography with non-conventional positron emitters: effects of their physical properties on image quality and potential clinical applications. *Eur. J. Nucl. Med.* **1997**, 24, 1301-1327.
- [14] Plenevaux, A.; Guillaume, M.; Brihaye, C.; Lemaire, C.; Cantineau, R. Chemical processing for production of no-carrier-added selenium-73 from germanium and ar-

- senic targets and synthesis of L-2-amino-4-([^{73}Se]methylseleno)butyric acid (L-[^{73}Se]selenomethionine. *Appl. Radiat. Isot.* **1990**, 41, 829-838.
- [15] Coenen, H.H.; Kling, P.; Stöcklin, G. Cerebral metabolism of L-[2- ^{18}F]Fluortyrosine, a new PET Tracer of protein synthesis. *J. Nucl. Med.* **1989**, 30, 1367-1372.
- [16] Qaim, S.M. Nuclear data relevant to cyclotron produced short-lived medical radioisotopes; *Radiochimica Acta* **1982**, 30, 147-162.
- [17] Qaim, S.M.; Clark, J.C.; Crouzel, C.; Guillaume, M.; Helmeke, H.J.; Nebeling, B.; Pike, V.W.; Stöcklin, G. PET radionuclide production. in: Radiopharmaceuticals for positron emission tomography. Stöcklin, G.; Pike, V.W. (eds.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London **1993**.
- [18] Anderson, C.J.; Welch, M.J.: Radiometal-labelled agents (non-technetium) for diagnostic imaging. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2219-2234.
- [19] Reivich, M.; Kuhl, D.; Wolf, A.; Greenberg, J.; Phelps, M.; Ido, T.; Casella, V.; Fowler, J.; Hoffman, E.; Alavi, A.; Som, P.; Sokoloff, L. The [^{18}F]fluorodeoxy-glucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization in man. *Circ. Res.* **1979**, 44, 127-137.
- [20] Gallagher, B.M.; Fowler, J.S.; Gutterson, N.I.; McGregor, R.R.; Wan, C.N.; Wolf, A.P. Metabolic Trapping as a Principle of Radiopharmaceutical Design: Some Factors Responsible for the Biodistribution of ^{18}F]2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose. *J. Nucl. Med.* **1978**, 19, 1154-1161.
- [21] Knapp, F.F.; Mirzadeh, S. The continuing important role of radionuclide generator systems for nuclear medicine. *Eur. J. Nucl. Med.* **1994**, 21, 1151-1165.
- [22] Qaim, S.M.; Stöcklin, G. Production of some medically important short-lived neutron deficient radioisotopes of halogens. *Radiochim. Acta* **1983**, 34, 25-40.
- [23] Guillaume, M.; Luxen, A.; Nebeling, B.; Argentini, M.; Clark J.C.; Pike, V.W. Recommendations for fluorine-18 production. *Appl. Radiat. Isot.* **1991**, 42, 749-762.
- [24] Hess, E.; Blessing, G.; Coenen, H.H.; Qaim, S.M. Improved target system for production of high purity [^{18}F]fluorine via the $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ reaction. *Appl. Radiat. Isot.* **2000**, 52, 1431-1440.
- [25] Ruth, T.J.; Wolf, A.P. Absolute cross section for the production of ^{18}F via the $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ reaction. *Radiochim. Acta* **1979**, 26, 21-24.

- [26] Casella, V.; Ido, T.; Wolf, A.P.; Fowler, J.S.; MacGregor, R.R.; Ruth, T.J. Anhydrous ^{18}F labeled elemental fluorine for pharmaceutical preparation. *J. Nucl. Med.* **1980**, 21, 750-757.
- [27] Casella, V.; Christman, D.R.; Ido, T.; Wolf, A.P. Excitation function for the $^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$ reaction up to 15 MeV. *Radiochim. Acta* **1978**, 25, 17-20.
- [28] Tilburry, R.S.; Dahl, J.R. ^{13}N species formed by the proton irradiation of water. *Radiat. Res.* **1979**, 79, 22-33.
- [29] Retz-Schmidt, T.; Weil, J.L. Excitation curves and angular distributions for $^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$. *Phys. Rev.* **1960**, 119, 1079-1084.
- [30] Bastian, Th.; Coenen H.H.; Qaim S.M. Excitation functions of $^{124}\text{Te}(\text{d},\text{xn})^{124,125}\text{I}$ reactions from threshold up to 14 MeV: comparative evaluation of nuclear routes for the production of ^{124}I . *Appl. Radiat. Isot.* **2001**, 55, 303-308.
- [31] Qaim, S.M.; Hohn, A.; Bastian, Th.; El-Azoney, K.M.; Blessing, G.; Spellerberg, S.; Scholten, B.; Coenen, H.H. Some optimisation studies relevant to the production of high-purity ^{124}I and ^{120}gI at a small-sized cyclotron. *Appl. Radiat. Isot.* **2003**, 58, 69-78.
- [32] Hohn, A.: Kernchemische Untersuchungen zur Produktion der medizinisch relevanten längerlebigen Positronenstrahler Iod-120 und Iod-124. *Dissertation Universität zu Köln, Berichte der Kernforschungsanlage Jülich*, JÜL 3838, **2000**.
- [33] Lieser, K.H. Einführung in die Kernchemie; Verlag Chemie, Weinheim **1980**.
- [34] Meyer, G.J.; Coenen, H.H.; Waters, S.; Langström, B.; Cantineau, R.; Strijckmans, K.; Vaalburg, W.; Halldin, C.; Crouzel, C.; Maziere B.; Luxen, A. Quality assurance and quality control of short lived radiopharmaceuticals for PET. In: Radiopharmaceuticals for PET, Methodical aspects. Stöcklin G. und Pike, V.W. (eds.); Developments in Nuclear Medicine, Vol 24, 3, Kuwer Academic Publishers **1993**, 91-150.
- [35] Coenen, H.H.; Klatte, B.; Knöchel, A.; Schüller, M.; Stöcklin, G. Preparation of nca 17- ^{18}F fluoroheptadecanoic acid in high yields via aminopolyether supported nucleophilic fluorination. *J. Labelled Compds. Radiopharm.* **1986**, 23, 455-467.
- [36] Block, D.; Klatte, B.; Knöchel, A.; Beckmann, R.; Holm, U. N.c.a. ^{18}F -labelling of aliphatic compounds in high yields via aminopolyether – supported nucleophilic substitution. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1986**, 23, 468-477.

- [37] Coenen, H.H. No-carrier-added ^{18}F -chemistry of radiopharmaceuticals. In: Synthesis and application of isotopically labelled compounds 1988; Baillie T.A.; Jones J.R. (eds.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam **1989**, 443-448.
- [38] Block, D.; Coenen, H.H.; Stöcklin, G.: The n.c.a. nucleophilic ^{18}F -fluorination of 1,N-disubstituted alkanes as fluoroalkylation agents. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1987**, 24, 1029-1042.
- [39] Hamacher, K.: Synthesis of n.c.a. cis- and trans-4- ^{18}F Fluoro-L-proline, Radio-tracer for PET-Investigation of Disordered Matrix Protein Synthesis. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **1999**, 42, 1135-1144.
- [40] Hamacher, K.; Coenen, H.H.; Stöcklin, G.: Efficient stereospecific synthesis of no-carrier-added 2- ^{18}F Fluor-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution. *J. Nucl. Med.* **1986**, 27, 235-238.
- [41] Angelini, G.; Speranza, M.; Wolf, A.P.; Shiue, C.Y.; Fowler, J.S.: New Developments in the Synthesis of no-Carrier-Added (NCA) ^{18}F -Labelled Aryl Fluorides Using the Nucleophilic Aromatic Substitution Reaction. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1984**, 21, 1223-1226.
- [42] Haka, M.S.; Kilbourn, M.R.; Watkins, G.L.; Toorongian, S.A.: Aryltrimethylammonium Trifluoromethane-sulfonates as Precursors to Aryl ^{18}F Fluorides: Improved Synthesis of ^{18}F GBR-13119. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1989**, 27, 823-833.
- [43] Shah, A.; Pike, V.W.; Widdowson, D.A. The synthesis of ^{18}F fluorarenes from the reaction of cyclotron-produced ^{18}F fluoride ion with diaryliodonium *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1998**, 2043-2046.
- [44] Plenevaux, A.; Lemaire, C.; Palmer, A.J.; Damhaut, P.; Comar, D.: Synthesis of non-activated ^{18}F -Fluorinated Aromatic Compounds through Nucleophilic Substitution and Decarboxylation Reaction. *Appl. Radiat. Isot.* **1992**, 43, 1035-1040.
- [45] Visser, G.W.M.; Bakker, C.N.M.; Herscheid, J.D.M.; Brinkman, G.; Hoekstra, A. The Chemical Properties of ^{18}F Acetylhypofluorite in Acetic Acid Solution. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1984**, 21, 1226 (Symposium Abstract).
- [46] Coenen, H.H.; Moerlein, S.M. Regiospecific Aromatic Fluorodemetalation of Group IVb Metalloarenes using Elemental Fluorine or Acetyl Hypofluorite. *J. Fluorine Chem.* **1987**, 36, 63-75.

- [47] Adam, M.J.; Abeysekaera, B.F.; Ruth, T.J.; Jivan, S.; Pate, B.D. Fluorination of Aromatic Compounds by Cleavage of Aryl-Tin Bond With (F-18)F₂ and CH₃COOF. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1984**, 21, 1227 (Symposium Abstract).
- [48] Coenen, H.H.; Franken, K.; Kling, P.; Stöcklin, G. Direct electrophilic radiofluorination of phenylalanine, tyrosine and dopa. *Appl. Radiat. Isot.* **1988**, 39, 1243-1250.
- [49] Lemaire, C.; Damhaut, P.; Pleneveaux, A.; Comar, D. Enantioselective synthesis of 6-[¹⁸F]fluoro-L-dopa from no-carrier-added fluorine-18-fluoride. *J. Nucl. Med.* **1994**, 35, 1996-2002.
- [50] Namavari, M.; Bishop, A.; Satyamurthy, N.; Bisa, G.; Barrio, J.R. Regioselective radiofluorodestannylation with [¹⁸F]F₂ and [¹⁸F]CH₃COOF: a high yield synthesis of 6-[¹⁸F]fluoro-L-dopa. *Appl. Rad. Isot.* **1992**, 43, 989-996.
- [51] de Vries, E.F.J.; Luurtsema, G.; Brüssermann, M.; Elsinga, P.H.; Vaalburg, W. Fully automated synthesis module for the high yield one-pot preparation of 6-[¹⁸F]fluoro-L-DOPA. *Appl. Rad. Isot.* **1999**, 51, 389-394.
- [52] Block, D.; Coenen, H.H.; Stöcklin, G. The n.c.a. nucleophilic ¹⁸F-Fluorination of 1,N-disubstituted alkanes as fluoroalkylation agents. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1987**, 24, 1029-1042.
- [53] Block, D.; Coenen, H.H.; Stöcklin, G. N.c.a. ¹⁸F-Fluoralkylation of H-Acidic Compounds. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1988**, 25, 201-216.
- [54] Kilbourn, M.R.; Dence, C.S.; Welch, M.J.; Mathias, C.J. Fluorine-18 labeling of proteins. *J. Nucl. Med.* **1987**, 28, 462-470.
- [55] Block, D.; Coenen, H.H.; Stöcklin, G. ¹⁸F-Fluoracylation via Fluorocarboxylic Acid esters. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1988**, 25, 185-200.
- [56] Shai, Y.; Kirk, K.L.; Channing, M.A.; Dunn, B.B.; Lesniak, M.A.; Eastman, R.C.; Finn, R.D.; Roth, J.; Jacobson, K.A. ¹⁸F-Labeled Insulin: A Prosthetic Group Methodology for Incorporation of a Positron Emitter into Peptides and Proteins. *Biochem.* **1989**, 28, 4801-4806.
- [57] Coenen, H.H.; Laufer, P.; Stöcklin, G.; Wienhard, K.; Pawlik, G.; Böcker-Schwarz, H.G.; Heiss, W.D. 3-N-(2'-[¹⁸F]fluorethyl)piperone: a new ligand for cerebral dopamine receptor studies with PET. *Life Sciences* **1987**, 40, 81-88.

- [58] Moerlein, S.M.; Perlmutter, J.S. Central serotonergic S_2 binding in papio anubis measured in vivo with N- ω -[^{18}F]fluorethylketanserin and PET. *Neurosci. Lett.* **1991**, 123, 23-26.
- [59] Moerlein, S.M., Perlmutter, J.S. Binding of 5-(2'-[^{18}F]fluoroethyl)flumazenil to central benzodiazepine receptors measured in living baboon by positron emission tomography. *Eur. J. Pharmacol.* **1992**, 218, 109-115.
- [60] Wester, H.J.; Herz, M.; Weber, W.; Heiss, P.; Senekowitsch-Schmidtke, R.; Schwaiger, M.; Stöcklin, G. Synthesis and radiopharmacology of O-(2-[^{18}F]Fluorethyl)-(L)-tyrosine (FET) for tumor imaging. *J. Nucl. Med.* **1999**, 40, 205-212.
- [61] Wilson, A.A.; Dasilva, J.N.; Houle, S. Synthesis of Two Radiofluorinated Cocaine Analogues using Distilled 2-[^{18}F]Fluoroethyl Bromide. *Appl. Radiat. Isot.* **1995**, 46, 765-770.
- [62] Guhlke, S.; Coenen, H.H.; Stöcklin, G. ^{18}F -Fluoracylated biotin for fast localisation of tumors with PET. *J. Nucl. Med.* **1991**, 32, 1009-1016.
- [63] Guhlke, S.; Wester, H.J.; Bruns, C.; Stöcklin, G. (2-[^{18}F]Fluoropropionyl(D)phe 1)-octreotide, a potential radiopharmaceutical for quantitative somatostatin receptor imaging with PET: Synthesis, Radiolabelling, In-vitro-validation and biodistribution in mice. *Nucl. Med. Biol.* **1996**, 23, 365-372.
- [64] Ludwig, T.: Zur n.c.a. ^{18}F -Fluorarylierung über metallorganische Zwischenstufen ausgehend von para-[^{18}F]Fluorhalobenzolen; Diplomarbeit, Universität zu Köln **1997**.
- [65] Wüst, F.R.; Kniess, T. Synthesis of 4-[^{18}F]fluoriodobenzene and its application in sonogashira cross-coupling reactions. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **2003**, 46, 699-713.
- [66] Ludwig, T.; Gail, R.; Coenen, H.H.: N.c.a. ^{18}F -Fluoroarylation via Organometallic Intermediates. *J. Nucl. Med.* **1998**, 39, 21P (Symposium Abstract).
- [67] Barre, L.; Barbier, L.; Lasne, M.C.: Investigations of Possible Routes to No-Carrier-Added 4-[^{18}F]Fluorophenol. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1993**, 35, 167 (Symposium Abstract).
- [68] Ludwig, T.; Ermert, J.; Coenen, H.H. 4-[^{18}F]fluoroarylalkylethers via an improved synthesis of n.c.a. 4-[^{18}F]fluorophenol. *Nucl. Med. Biol.* **2002**, 29, 255-262.

- [69] Iwata, R., Ido, T., Tada, M. Column extraction method for rapid preparation of [^{11}C]acetic and [^{11}C]palmitic acids. *Appl. Radiat. Isot.* **1995**, 46, 117-121.
- [70] Långström, B.; Andersson, Y.; Antoni, G.; Axelson, S.; Bjurling, P.; Fasth, K.J.; Gee, A.; Kihlberg, T.; Ulin, J.; Watanabe, Y. Design of tracer molecules with emphasis on stereochemistry, position of label and multiple isotopic labeling. *Acta. Radiol. Suppl.* **1991**, 376, 31-35.
- [71] Långström, B.; Antoni, G.; Gullberg, P.; Halldin, C.; Malmberg, P.; Någren, K.; Rimland, A.; Svärd, H. Synthesis of L- and D-[methyl- ^{11}C]methionine. *J. Nucl. Med.*, **1987**, 28, 1037-1040.
- [72] Ehrin, E.; Gawell, L.; Högberg, T.; de Paulis, T.; Ström, P. Synthesis of [Methoxy- ^3H] and [Methoxy- ^{11}C]-labelled Raclopride, specific dopamine- D_2 receptor ligands. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1987**, 24, 931-940.
- [73] Suzuki, K.; Inoue, O.; Tamate, K.; Mikado, F. Production of 3-N-[^{11}C]Methylspiperone with high specific activity and high radiochemical purity for PET studies: Suppression of its radiolysis. *Appl. Radiat. Isot.* **1990**, 41, 593-599.
- [74] Iwata, R.; Ido, T.; Takahashi, T.; Nakanishi, H.; Iida, S. Optimization of [^{11}C]HCN production and no-carrier-added [^{11}C]amino acid synthesis. *Appl. Radiat. Isot.* 38, **1987**, 97-102.
- [75] Westerberg, G.; Kärger, W.; Onoe, H.; Långström, B. Labelling of proteins with ^{11}C in high specific radioactivity: [^{11}C]albumin and [^{11}C]transferrin. *Appl. Radiat. Isot.* **1994**, 45, 773-782.
- [76] Westerberg, G.; Bergström, M.; Gustafson, S.; Lindquist, U.; Sundin, A.; Långström, B. Labelling of polysaccharides using [^{11}C] cyanogenbromide. In vivo and in-vitro evaluation of ^{11}C -hyaluronan uptake kinetics. *Nucl. Med. Biol.* **1995**, 22, 251-256.
- [77] Seevers, R.H.; Counsell, R.E. Radioiodination techniques for small organic molecules. *Chem. Rev.* **1982**, 82, 575-590.
- [78] Jirousek, L. On the chemical nature of iodinating species. *J. Radioanal. Chem.* **1981**, 65, 139-154.
- [79] Petzold, G.: Untersuchungen zur elektrophilen Radiobromierung und -iodierung aromatischer Verbindungen mit N-Halogenverbindungen ohne Trägerzusatz. *Dis-*

- sertation Universität zu Köln, Berichte der Kernforschungsanlage Jülich, JÜL 1810, **1982**.
- [80] Youfeng, H.; Coenen, H.H.; Petzold, G.; Stöcklin, G. A comparative study of simple aromatic compounds via N-halosuccinimides and Chloramin-T in TFAA. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1982**, 19, 807-819.
- [81] Coenen, H.H.; El-Wetery, A.S.; Stöcklin, G. Further studies on practically carrier-free ^{123}I -iodination and $^{75,77}\text{Br}$ -bromination of aromatic substrates. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1981**, 18, 114-115.
- [82] Mennicke, E.; Holschbach, M.H.; Coenen, H.H. N.c.a. radioiodination of deactivated arenes with N-chlorosuccinimide in trifluoromethanesulfonic acid. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **2000**, 43, 721-737.
- [83] Moerlein, S.M.; Mathis, C.A.; Yano, Y. Comparative evaluation of electrophilic aromatic iododemetalation techniques for labeling radiopharmaceuticals with Iodine-122. *Appl. Radiat. Isot.* **1987**, 38, 85-90.
- [84] Mennicke, E.; Henneken, H.; Holschbach, M.; Coenen, H.H. Thallium-tris(trifluoroacetate): A powerful reagent for the n.c.a. radioiodination of weakly activated arenes. *Eur. J. Nucl. Med.* **1998**, 25, 843-845.
- [85] Morrison, M.; Bayse, G.S. Catalysis of Iodination by Lactoperoxidase. *Biochemistry* **1970**, 9, 2995-3000.
- [86] Moore, D.H.; Wolf, W. Electrochemical Radioiodination of Estradiol. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **1978**, 15, 443-450.
- [87] Moerlein, S.M.; Beyer, W.; Stöcklin, G. No-carrier-added radiobromination and radioiodination of aromatic rings using *in situ* generated peracetic acid. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 779-786.
- [88] Moerlein, S.M.; Coenen, H.H.; Regiospecific no-carrier-added radiobromination and radioiodination of aryltrimethyl group IVb organometallics. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1985**, 1941-1947.
- [89] Kabalka, G.W.; Varma, R.S. The synthesis of radiolabeled compounds via organometallic intermediates. *Tetrahedron* **1989**, 45, 6601-6621.
- [90] McKillop, A.; Taylor, E.C.; Fowler, J.S.; Zelesko, M.J.; Hunt, J.D.; McGillivray, G. Thallium in organic synthesis. X. A one-step synthesis of aryl iodides. *Tetrahedron Lett.* **1969**, Vol. 10, 29, 2427-2430.

- [91] Flanagan, R.J. The synthesis of halogenated radiopharmaceuticals using organomercurials. in "New trends in radiopharmaceutical synthesis, quality assurance and regulatory control." Emran, A.M. (ed.), Plenum Press, N.Y. **1991**, 279-288.
- [92] Lindley, J. Copper assisted nucleophilic substitution of aryl halogen. *Tetrahedron* **1984**, 40, 1433-1456.
- [93] Clark, J.H.; Jones, C.W. Reverse halogenation using supported copper(I)iodide. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 1409-1411.
- [94] Henneken, H. Zur praktisch trägerfreien (n.c.a.) arkierung von Nitroimidazol-Aminosäure-Konjugaten mit Radioiod zur tomographischen Untersuchung hypoxischer Zellen. *Dissertation Uni Köln, Berichte der Kernforschungsanlage Jülich*, JÜL 3162, **1995**.
- [95] Cheng, Y.; Prusoff, W.H. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I_{50}) of enzymatic reactions. *Biochem. Pharmacol.* **1973**, 22, 3099-3108.
- [96] Londos, C.; Cooper, D.M.F.; Wolff, J. Subclasses of external adenosine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, 77, 2551-2554.
- [97] Zhou, Q.Y.; Li, C.; Olah, M.E.; Johnson, R.A.; Stiles, G.L.; Civelli O. Molecular cloning and characterization of an adenosine receptor: The A_3 adenosine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 7432-7436.
- [98] Salvatore, C.A.; Jacobsen, M.A.; Taylor, H.E.; Linden, J.; Johnson, R.G. Molecular cloning and characterization of the human A_3 adenosine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, **1993**, 10365-10369.
- [99] Pierce, K.D.; Furlong, T.J.; Selbie, L.-A.; Shine, J. Molecular cloning and expression of an adenosine A_{2B} receptor from human brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, 187, 86-93.
- [100] Poulsen, S.-A.; Quinn, R.J. Adenosine receptors: New opportunities for future drugs. *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, 6, 619-641.
- [101] Williams, M. Adenosine: The prototypic neuromodulator. *Neurochem. Int.* **1989**, 14, 249-264.
- [102] Jacobsen, K.A.; von Lubitz, D.K.J.E.; Daly, J.W.; Fredholm, B.B. Adenosine receptor ligands: Differences with acute versus chronic treatment. *Trends Pharmacol. Sci.* **1996**, 17, 108-113.

- [103] Schingnitz, G.; Küfner-Mühl, U.; Ensinger, H.; Lehr, E.; Kuhn, F.J. Selective A₁-antagonists for treatment of cognitive deficits. *Nucleosides Nucleotides* **2001**, 10, 1067-1073.
- [104] Suzuki, F.; Shimada, J.; Shiozaki, S.; Ichikawa, S.; Ishii, A.; Nakamura, J.; Nonaka, H.; Kobayashi, H.; Fuse, E. Adenosine A₁ antagonists. 3. Structure-activity relationships on amelioration against scopolamine- or N⁶-((R)-phenylisopropyl)adenosine-induced cognitive disturbance. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 2508-2518.
- [105] Shimada, J.; Suzuki, F.; Nonaka, H.; Ishii, A.; Ichikawa, S. (E)-1,3-Dialkyl-7-methyl-8-(3,4,5-trimethoxystyryl)xanthines: Potent and selective adenosine A₂ antagonists. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 2342-2345.
- [106] Kanda, T.; Jackson, M.J.; Smith, L.A.; Pearce, R.K.B.; Nakamura, J.; Kase, H.; Kuwana, Y.; Jenner, P. Adenosine A_{2A} antagonists: A novel antiparkinsonian agent, that does not provoke dyskinesia in parkinsonian monkeys. *Ann. Neurol.* **1998**, 43, 507-513.
- [107] Watt, A.H. Sick sinus syndrome: An adenosine mediated disease. *Lancet*, **1985**, 786-788.
- [108] Bertolet, B.D.; McMurtrie, E.B.; Hill, J.A.; Belardinelli, L. Theophylline for the treatment of atrioventricular block after myocardial infarction. *Ann. Int. Med.* **1995**, 123, 509-511.
- [109] Kase, H.; Richardson, P.J.; Jenner, P. (eds.) *Adenosine Receptors and Parkinson's Disease*. San Diego, **2000**, Academic Press.
- [110] Müller, C.E. A_{2A} adenosine receptor antagonists – future drugs for Parkinson's disease? *Drugs of the Future* **2000**, 25, 1043-1052.
- [111] Ferre, S. Adenosine-dopamine interactions in the ventral striatum. Implications for the treatment of schizophrenia. *Psychopharmacology* **1997**, 133, 107-120.
- [112] Holschbach, M.H.; Olsson, R.A. Applications of Adenosine Receptor Ligands in Medical Imaging by Positron Emission Tomography. *Curr. Pharma. Des.* **2002**, 8, 2345-2352.
- [113] Nees, S.; Herzog, V.; Becker, B.F.; Bock, M.; Des Rosiers, C.; Gerlach, E. The coronary endothelium: a highly active metabolic barrier for adenosine. *Bas. Res. Cardiol.* **1985**, 80, 515-529.

- [114] Scammels, P.J.; Baker, S.P.; Belardinelli, L.; Olsson, R.A. Substituted 1,3-dipropylxanthines as irreversible antagonists of A₁ adenosine receptors. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2704-2712.
- [115] Hess, S.; Müller, C.E.; Frobenius, W.; Reith, U.; Klotz, K.N.; Eger, K. 7-Deazaadenines bearing polar substituents: structure activity relationships of new A₁ and A₃ adenosine receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 4636-4646.
- [116] Müller, C.E. A₁-Adenosine receptor antagonists. *Exp. Opin. Ther. Patents* **1997**, 5, 419-440.
- [117] Trivedi, B.K.; Bruns, R.F. [1,2,4]Triazolo[3,4-a]quinoxaline-4-amines: a new class of A₁ receptor selective adenosine antagonists. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1011-1014.
- [118] Kuroda, S.; Akahane, A.; Itani, H.; Nishimura, S.; Durkin, K.; Kinoshita, T.; Tenda, Y.; Sakane, K. Discovery of FR1666124, a novel water soluble pyrazolo[1,5- α]pyridine adenosine A₁ receptor antagonist. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1979-1984.
- [119] Shimada, J.; Suzuki, F.; Nonaka, H.; Ishii, A. 8-Polycycloalkyl-1,3-dipropylxanthines as potent and selective antagonists for A₁-adenosine receptors. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 924 - 930
- [120] Ishiwata, K.; Furuta, R.; Shimada, J.; Ishii, S.; Endo, K.; Suzuki, F.; Senda, M. Synthesis and preliminary evaluation of [¹¹C]KF15372, a selective adenosine A₁ antagonist. *Appl. Radiat. Isot.*, **1995**, 46, 1009-1013.
- [121] Furuta, R.; Ishiwata, K.; Kiyosawa, M.; Ishii, S.; Saito, N.; Shimada, J.; Endo, K.; Suzuki, F.; Senda, M. Carbon-11-labeled KF15372, a potential central nervous system adenosine A₁ receptor ligand. *J. Nucl. Med.*, **1996**, 37, 1203-1207.
- [122] Holschbach, M.H.; Fein, T.; Krummeich, C.; Lewis, R.G.; Wutz, W.; Schwabe, U.; Unterlugauer, D.; Olsson, R.A. A₁ Adenosine receptor antagonists as ligands for positron emission tomography (PET) and single photon emission tomography (SPET). *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 556-563.
- [123] Holschbach, M.H.; Fein, T.; Wutz, W.; Boy, C.; Cremer, M.; Mühlensiepen, H.; Hamacher, K.; Lewis, R.G.; Schwabe, U.; Müller-Gärtner, H.W.; Coenen, H.H.; Olsson, R.A. Synthesis and characterization of radiolabelled xanthines: new antagonists for the A₁-Adenosine receptor (A₁AR). *Drug Dev. Res.* **1998**, 43, 70-76.

- [124] Holschbach, M.H.; Olsson, R.A.; Bier, D.; Wutz, W.; Sihver, W.; Schüller, M.; Palm, B.; Coenen, H.H. Synthesis and evaluation of no-carrier-added 8-cyclopentyl-3-(3- ^{18}F fluoropropyl)-1-propylxanthine (^{18}F CPFPX): a potent and selective A_1 -adenosine receptor antagonist for in vivo imaging. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 5150-5156.
- [125] Holschbach, M.H.; Boy, C.; Mühlensiepen, H.; Herzog, H.; Shah, J.; Olsson, R.A.; Müller-Gärtner, H.W.; Coenen, H.H. Characterization and biodistribution of the novel A_1 -adenosine receptor antagonist ^{18}F CPFPX: preclinical studies using autoradiography and PET. *NeuroImage* **1998**, 7, A 3.
- [126] Boy, C.; Holschbach, M.H.; Mühlensiepen, H.; Herzog, H.; Shah, J.; Olsson, R.A.; Coenen, H.H.; Müller-Gärtner, H.W. A_1 -Adenosine receptor ($A_1\text{AR}$) mapping in primate brain using the novel $A_1\text{AR}$ antagonist ^{18}F CPFPX. *NeuroImage* **1998**, 7, A 39.
- [127] Fastbom, J.; Pazos, A.; Probst, A.; Palacios J.M. Adenosine A_1 receptors in the human brain: a quantitative autoradiographic study. *Neuroscience* **1987**, 22, 827-839.
- [128] Ishiwata, K.; Noguchi, J.; Toyama, H.; Sakiyama, Y.; Koike, N.; Ishii, S.; Oda, K.; Endo, K.; Suzuki, F.; Senda, M. Synthesis and preliminary evaluation of ^{11}C KF17837, a selective adenosine A_{2A} antagonist. *Appl. Radiat. Isot.* **1996**, 47, 507-511.
- [129] Nonaka, Y.; Shimada, J.; Nonaka, H.; Koike, N.; Aoki, N.; Kobayashi, H.; Kase, H.; Yamaguchi, K.; Suzuki, F. Photoisomerization of a potent and selective A_2 adenosine antagonist (*E*)-1,3-dipropyl-8-(3,4-dimethoxystyryl)-7-methylxanthine. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 3731-3733.
- [130] Ishiwata, K.; Sakiyama, Y.; Sakiyama, T.; Shimada, J.; Toyama, H.; Oda, K.; Suzuki, F.; Senda, M. Myocardial adenosine A_{2A} receptor imaging of rabbit by PET with ^{11}C KF17837. *Ann. Nucl. Med.* **1997**, 11, 219-225.
- [131] Ishiwata, K.; Noguchi, J.; Wakayabashi, S.; Shimada, J.; Ogi, N.; Nariai, T.; Tanaka, A.; Endo, K.; Suzuki, F.; Senda, M. ^{11}C -labeled KF18446, a potential central nervous system adenosine A_{2a} receptor ligand. *J. Nucl. Med.* **2000**, 41, 345-354.

- [132] Stone-Elander, S.; Thorell, J.O.; Eriksson, L.; Fredholm, B.B.; Ingvar, M. In vivo biodistribution of [N-¹¹C-methyl]KF 17837 using 3-D-PET: evaluation as a ligand for the study of adenosine A_{2A} receptors. *Nucl. Med. Biol.* **1997**, 24, 187-191.
- [133] Jacobson, K.A.; Nikodijevic, O.; Padgett, W.L.; Gallo-Rodriguez, C.; Maillard, M.; Daly, J.W. 8-(3-chlorostyryl)caffeine (CSC) is a selective A₂-adenosine antagonist *in vitro* and *in vivo*. *FEBS Lett.* **1993**, 323, 141-144.
- [134] Baraldi, P.G.; Cacciari, B.; Spalluto, G.; Pineda de las Infantas y Villatoro, M.J.; Zocchi, C.; Dionisotti, S.; Ongini, E. Pyrazolo[4,3-a]-1,2,4-triazolo[1,5-e]pyrimidine derivatives: potent and selective adenosine A_{2A} antagonists. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1164-1171.
- [135] Todde, S.; Moresco, R.M.; Simonelli, P.; Baraldi, P.G.; Cacciari, B.; Spalluto, G.; Varani, K.; Monopoli, A.; Matarrese, M.; Carpinelli, A.; Magni, F.; Kienle, M.G.; Fazio, F. Design, radiosynthesis, and biodistribution of a new potent and selective ligand for *in vivo* imaging of the adenosine A_{2A} receptor system using positron emission tomography. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 4359-4362.
- [136] Shiozaki, S.; Ichikawa, S.; Nakamura, J.; Kitamura, S.; Yamada, K.; Kuwana, Y. Actions of adenosine A_{2A} antagonist KW-6002 on drug-induced catalepsy and hypokinesia caused by reserpine or MPTP. *Psychopharmacology* **1999**, 147, 90-96.
- [137] Jacobsen, K.A.; van Galen P.J.M.; Williams, M. Adenosine receptors: Pharmacology, Structure Activity Relationships, and Therapeutic Potential. *J. Med. Chem.* 35, **1992**, 407-422.
- [138] Klotz, K.N. Adenosine receptors and their ligands. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2000**, 362, 382-391.
- [139] Thompson, R.D.; Secunda, S.; Daly, J.W.; Olsson, R.A. N⁶,9 Disubstituted adenes: Potent selective antagonists at the A₁ adenosine receptor. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 2877-2882.
- [140] Cacciari, B.; Pastorin, G.; Spalluto, G. Medicinal Chemistry of A_{2A} Adenosine Receptor Antagonists. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, 3, 403-411.
- [141] Shimada, J.; Suzuki, F.; Nonaka, H.; Ishii, A.; Ichikawa, S. ((E)-1,3-dialkyl-7-methyl-8-(3,4,5-trimethoxystyryl)-xanthines: potent and selective A_{2A} antagonists. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 2342-2345.

- [142] Nonaka, H.; Ichimura, M.; Takeda, M.; Nonaka, Y.; Shimada, J.; Suzuki, F.; Yamaguchi, K.; Kase, H. KF17837 ((E)-8-(3,4-dimethoxystyryl)-1,3-dipropyl-7-methylxanthine, a a potent and selective A_{2A} receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharm. Sect.* **1994**, 267, 335-341.
- [143] Williams, M.; Francis, J.E.; Ghai, G.; Braunwalder, A.; Psychoyos, S.; Stone, G.A.; Cash, W.D. Biochemical characterization of the triazoloquinazoline, CGS 15943, a novel, non-xanthine, adenosine antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1987**, 241, 415-420.
- [144] Francis, J.E.; Cash, W.D.; Psychoyos, S.; Ghai, G.; Wenk, P.; Friedmann, R.C.; Atkins, C.; Warren, V.; Furness, P.; Hyun, J.L.; Stone, G.A.; Desai, M.; Williams, M. Structure-activity profile of a series of novel triazoloquinazoline adenosine antagonists. *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1014-1020.
- [145] Poucher, S.M.; Keddie, J.R.; Singh, P.; Stogall, S.M.; Caulkett, P.W.R.; Jones, G.; Collins, M.G. The in vitro pharmacology of ZM 241385, a potent, non-xanthine A_{2A} selective adenosine receptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.* **1995**, 115, 1096-1102.
- [146] Baraldi, P.G.; Cacciari, B.; Spalluto, G. Pyrazolo[4,3-e]-1,2,4-triazolo[1,5-c]-pyrimidine derivatives: Potent and selective A_{2A} adenosine receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1164-71.
- [147] Müller, C.E.; Stein, B. Adenosine Receptor Antagonists: Structures and potential therapeutic applications. *Curr. Pharm. Des.* **1996**, 2, 501-530.
- [148] Cacciari, B.; Pastorin, G.; Spalluto, G. Medicinal Chemistry of A_{2A} Adenosine Receptor Antagonists. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, 3, 403-411.
- [149] Müller, C.E.; Sandoval-Ramirez, J.; Schobert, U.; Geis, U.; Klotz, K.N. 8-(Sulfostyryl)xanthines: Water-soluble A_{2A} -selective adenosine receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6, 707-719.
- [150] Sauer, R.; Maurinsh, J.; Reith, U.; Fülle, F.; Klotz, K.N.; Müller, C.E. Water-soluble phosphate prodrugs of 1-Propargyl-8-styrylxanthine derivatives, A_{2A} -selective adenosine receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 440-448.
- [151] Sihver, W.; Bier, D.; Holschbach, M.H.; Schulze, A.; Wutz, W.; Olsson, R.A.; Coenen, H.H. Binding of tritiated and radioiodinated ZM241,385 to brain A_{2A} adenosine receptors. *Nucl. Med. Biol.* im Druck.

- [152] Lohse, M.J.; Klotz, K.N.; Diekmann, E.; Friedrich, K.; Schwabe, U. 2',3'-Dideoxy-N⁶-cyclohexyladenosine: an adenosine derivative with antagonistic properties at adenosine receptors. *Eur. J. Pharmacol.* **1988**, 156, 157-160.
- [153] Bruns, R.F. Adenosine antagonism by purines and benzopteridines in human fibroblasts. *Biochem. Pharmacol.* **1981**, 30, 325-333.
- [154] Camaioni, E.; Costanzi, S.; Vittori, S.; Volpini, R.; Klotz, K.-N.; Cristalli, G. New substituted 9-Alkylpurines as adenosine receptor ligands. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6, 523-533.
- [155] Klotz, K.N.; Kachler, S.; Lambertucci, C.; Vittori, S.; Volpini, R.; Cristalli, G. 9-Ethyladenine derivatives as adenosine receptor antagonists: 2- and 8-substitution results in distinctive selectivities. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2003**, 367, 629-634.
- [156] Schutzrecht EP 0 544 445 A2 (1992-11-19). Imperial Chemical Industries PLC London. Pr.: GB 9125001 1991-11-25. Furyl-substituted purines, oxazolo-pyrimidines and pteridines as adenosine antagonists.
- [157] Traube, W. The synthesis of ureas, xanthines, theobromines, theophyllines and caffeine from cyanoacetic acid. *Chem. Ber.* **1900**, 3, 3035-3056.
- [158] Agathocleus, D.C.; Shaw, G. Purines, Pyrimidines and Imidazoles. Part 67. Some N-substituted o-(2-Hydroxyethyl)benzyl-purines, -pyrimidines and imidazoles as aromatic acyclonucleoside analogues. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I.* **1993**, 2555-2559.
- [159] Bendich, A.; Tinker, J.F.; Brown, G.B. A synthesis of isoguanine labeled with isotopic nitrogen. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, 70, 3109-3113.
- [160] Nair, V.; Richardson, S.G. Utility of purinyl radicals in the synthesis of base-modified nucleosides and alkylpurines: 6-amino group replacement by H, Cl, Br, and I. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 3969-3974.
- [161] Robins, R.K.; Christensen B.E. Purines I, The Chlorination of certain purinones with phosphorous oxychloride in the presence of aliphatic tertiary amines. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 3624-3627.
- [162] Montgomery, J.A.; Holum, L.B. Synthesis of potential anti cancer agents. XI. N^{2,6}-Alkyl derivatives of 2,6-diaminopurine. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 404-408.

- [163] Montgomery, J.A.; Holum, L.B. Synthesis of potential anticancer agents. III. Hydrazino analogs of biologically active purines. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 2185-2188.
- [164] Taylor, E.C.; Vogl, O.; Cheng, C.C. Studies in Purine Chemistry. II. A facile synthesis of 2-substituted adenines. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 2442-2448.
- [165] Bredereck, H.; Edenhofer, A. Synthesen aus der Purinreihe, VI: Synthesen mit 4- und 5-Amino-uracil. *Chem. Ber.* **1955**, *88*, 1306-1312.
- [166] Roth, B.; Smith, J.M. jr.; Hultquist, M.E. Analogs of Pteroglutamic acid. VII. 2-Alkylamino Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 2864-2868.
- [167] Elion, G.E.; Lange, W.H.; Hitchings, G.H. Studies on condensed pyrimidine systems. XIII. Some Amino-substituted Derivatives of Guanine and 6-Thioguanine. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 217-220.
- [168] Baraldi, P.G.; Cacciari, B.; Spalluto, G.; Bergonzoni, M.; Dionisotti, S.; Ongini, E.; Varani, K.; Monopoli, A.; Carpinelli, A.; Magni, F.; Galli Kienle, M.; Fazio, F. Design synthesis, and biological evaluation of a second generation of pyrazolo[4,3-e]1,2,4-triazolo[1,5-c]pyrimidines as potent and selective A_{2A} adenosine receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2126-2133.
- [169] Robins, R.K.; Dille, K.J.; Willits, C.H.; Christensen, B. E. Purines. II. The Synthesis of Certain Purines and the Cyclization of Several Substituted 4,5-Diaminopyrimidines *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 263-266.
- [170] Bredereck, H.; Schmötzler, G. Die Reaktionen der tetrameren Blausäure. *Lieb. Ann. Chem.* **1956**, *600*, 95-108.
- [171] Roger, R.; Neilson, D.G. The Chemistry of Imidates. *Chem. Rev.* **1961**, *61*, 179-211.
- [172] Pinner, A.; Klein, F. Umwandlung der Nitrile in Imide. *Chem. Ber.* **1877**, *10*, 1889-1897.
- [173] Thompson, R.D; Secunda, S.; Daly, J.W.; Olsson, R.A. N⁶,9 Disubstituted adenines: Potent selective antagonists at the A₁ adenosine receptor. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2877-2882.
- [174] Brown, D.J.; Ford, P.W. Simple Pyrimidines,. Part X. The formation and reactivity of 2-, 4-, and 5-pyrimidinyl sulphones and sulfoxides. *J. Chem. Soc. (C)* **1967**, 568-572.

- [175] Barlin, G.B.; Brown, D.J. Useful reactions of nucleophiles with some methylsulphonyl derivatives of nitrogen heterocycles. *J. Chem. Soc. (C)* **1967**, 2473-2476.
- [176] Benton, F.L; Dillon, T.E. The cleavage of ethers with boron bromide. I. Some common ethers. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64*, 1128-1129.
- [177] McOmie, J.F.W.; Watts, M.L.; West, D.E. Demethylation of aryl methyl ethers by boron tribromide. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2289-2292.
- [178] Kloss, G.; Becker, H.; Niemann, E.; Leven, M. 1-(Iodhydroxyphenyl)-2-aminopropanderivate. Verfahren zu ihrer Herstellung und diagnostisches Mittel. Patent Specification 2145282 (Fed. Rep. of Germany). **1974**.
- [179] Halldin, C.; Gulyás, B.; Langer, O.; Farde, L. Brain radioligands – State of the art and new trends. *Quat. J. Nucl. Med.* **2001**, *45*, 139-152.
- [180] Pike, V.W. Positron-emitting radioligands for studies in vivo – probes for human psychopharmacology. *J. Psychopharmacol.* **1993**, *7*, 139-158
- [181] Dischino, D.D.; Welch, M.J.; Kilbourn, M.R.; Raichle, M.E. Relationship between lipophilicity and brain extraction of C-11-labeled radiopharmaceuticals. *J. Nucl. Med.* **1983**, *24*, 1030-1038.
- [182] Moerlein, S.M.; Laufer, P.; Stöcklin, G. Effect of lipophilicity on the in vivo localization of radiolabelled spiperone analogues. *Int. J. Nucl. Med. Biol.* **1985**, *12*, 353-356.
- [183] Svenningsson, P.; Hall, H.; Sedvall, G.; Fredholm, B.B. Distribution of Adenosine Receptors in the Postmortem Human Brain: An Extended Autoradiographic Study. *Synapse* **1997**, *27*, 322-335.
- [184] Jarvis, M.F.; Schulz, R.; Hutchinson, A.J.; Do, U.H.; Sills, M.A.; Williams, M. [³H]CGS21680, a selective A₂ adenosine receptor agonist directly labels A₂ receptors in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther.* **1989**, *251*, 888-893.
- [185] Leo, A.J. Calculating log P oct from structures. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1281–1306.
- [186] Bruns, R.F.; Fergus, J.H. Solubilities of adenosine antagonists determined by radio-receptor assay. *J. Pharm. Pharmacol.* **1989**, *41*, 590-594.
- [187] Baraldi, P.G.; Cacciari, B.; Spalluto, G.; Bergonzoni, M.; Dionisotti, S.; Ongini, E.; Varani, K.; Monopoli, A.; Carpinelli, A.; Magni, F.; Galli Kienle, M.; Fazio, F. Design synthesis, and biological evaluation of a second generation of pyrazolo[4,3-e]1,2,4-

- triazolo[1,5-c]pyrimidines as potent and selective A_{2A} adenosine receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 2126-2133.
- [188] Vittori, S.; Camaioni, E.; Di Francesco, E.; Volpini, R.; Klotz, K.-N.; Lohse, M.; Cristalli, G. *J. Drug Dev. Res.* 1996, 37, 113 (Symposium Abstract).
- [189] Palmer, T.M.; Poucher, S.M.; Jacobsen, K.M.; Stiles, G.L. 125I-4-(2-[7-Amino-2-(2-furyl){1,2,4}triazolo{2,3-a}{1,3,5}triazin-5-yl-amino]ethyl)phenol, a High Affinity Antagonist Radioligand Selective for the A_{2A} Adenosine Receptor. *Mol. Pharmacol.* **1995**, 48, 970-974.
- [190] Cacciari, B.; Pastorin, G.; Spalluto, G. Medicinal Chemistry of A_{2A} Adenosine Receptor Antagonists. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, 3, 403-411.
- [191] Schirbel, A.: Zur Synthese trägerarmer PET-Radiotracer mit Kohlenstoff-11. *Dissertation Universität-GH-Essen, Berichte der Kernforschungsanlage Jülich*, JÜL 3602, **1998**.
- [192] Hamacher, K.; Blessing, G.; Nebeling, B. Computer-aided synthesis (CAS) of no-carrier-added 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose: an efficient automated system for the aminopolyether supported nucleophilic fluorination. *Appl. Radiat. Isot.* **1990**, 41, 49-55.
- [193] Sihver, W.; Bier, D.; Schulze, A.; Wutz, W.; Holschbach, M.H.; Olsson, R.A.; Coenen, H.H. Comparison of Tritiated and Radioiodinated ZM241385 Binding Properties at Central A_{2A} Adenosine Receptors. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2003**, 46, S372.
- [194] Taylor E.C.; Cain C.K. Pteridines. VII. The Synthesis of 2-Alkylaminopteridines. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 1644-1647.
- [195] Reynaud, P.; Moredu, R. C. Préparation et étude spectroscopique des iminosters aliphatiques. 2. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1964, 2997-3001.
- [196] Hamacher, K.; Hirschfelder, Th.; Coenen, H.H. Electrochemical cell for separation of [¹⁸F]fluoride from irradiated ¹⁸O-water and subsequent no carrier added nucleophilic fluorination. *Appl. Radiat. Isot.* **2002**, 56, 519-523.
- [197] Holschbach, M.; Schüller, M. A new and simple on-line method for the preparation of n.c.a. [¹¹C]methyl iodide. *Appl. Radiat. Isot.* **1993**, 44, 779-780.
- [198] Dipl. Ing. Werner Roden, private Kommunikation

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AC	Adenylatzyklase
Alox	Aluminiumoxid
APE	Aminopolyether
AR	Adenosinrezeptor
A _s	spezifische Aktivität
Bq	Bequerel (Zerfälle/s)
BHS	Blut-Hirn-Schranke
bzw.	beziehungsweise
CAT	Chloramin-T (N-Chlortoluol-4-sulfonamid Na-Salz)
Ci	Curie ($3,7 \cdot 10^{10}$ Bq)
ClogP	Mit dem Programm ClogP (Biobyte) berechneter logP-Wert
CT	Computertomographie
c.a.	carrier-added (unter Trägerzusatz)
c.f.	carrier-free (trägerfrei)
d	Dublet
DAG	Diacylglycerin
DC	Dünnschichtchromatographie
DEA	Diethylamin
DMAA	Dimethylacetamid
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOPA	3,4-Dihydroxy-L-phenylalanin
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektronensprayionisation
EtOH	Ethanol
FDG	2-[¹⁸ F]Fluor-2-deoxy-D-glucose
fMRT	funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HRMS	hochauflösendes Massenspektrum
IP3	Inositoltriphosphat

k	Geschwindigkeitskonstante
k'	Kapazitätsfaktor
Kryptofix® 2.2.2.	4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosan
logP	Logarithmus des Verteilungskoeffizienten Octanol/Wasser
m	Multipllett
MeOH	Methanol
MCPBA	3-Chlorperoxybenzoesäure
MS	Massenspektrum
NBS	N-Bromsuccinimid
NCS	N-Chlorsuccinimid
NCTFS	N-Chlortetrafluorsuccinimid
NMR	Kernmagnetische Resonanz
n.c.a.	non-carrier-added
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PTK	Phasentransferkatalysator
ppm	parts per million
RCA	Radiochemische Ausbeute
RIA	Radio-Immuno-Assay
RP	Reversed Phase
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SiO	Kieselgel
t	Triplett
THF	Tetrahydrofuran
Tos	4-Toluolsulfonyl
Triflat (TfO ⁻)	Trifluormethansulfonat
t _{1/2}	Halbwertszeit
V/V	Volumenverhältnisse
ZNS	zentrales Nervensystem
z.B.	zum Beispiel

Danksagung

Herrn Prof. Dr. H. H. Coenen möchte ich an dieser Stelle herzlich für die interessante Themenstellung, die Chance zur freien wissenschaftlichen Forschung und die Betreuung dieser Arbeit danken.

Ein besonderer Dank gilt meinen Tutoren Dr. Markus Holschbach und Dr. Dirk Bier. Ihre geduldige, intensive Unterstützung und stete Diskussionsbereitschaft war eine große Hilfe und sehr wichtig für das Gelingen dieser Arbeit. Es war eine Freude von ihnen zu lernen.

Frau Dr. Wiebke Sihver, Herrn Walter Wutz sowie der ganzen Pharmakologiegruppe des Instituts für Nuklearchemie, schulde ich meinen Dank für die Durchführung der Autoradiographien und Hilfe bei den Bindungsstudien.

Für die zahlreichen und zuverlässigen Produktionen von Kohlenstoff-11 und Fluor-18 bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der Zyklotron-Arbeitsgruppen des Instituts für Nuklearchemie des Forschungszentrums Jülich.

Für das mir entgegengebrachte Interesse und die produktiven Gespräche danke ich Herrn Prof. Dr. R. Olsson und Herrn Dr. K. Hamacher. Sie waren eine ständige Motivation.

Nicht zuletzt gilt mein Dank allen Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Nuklearchemie, die durch ihre freundliche Art und Kollegialität ein Arbeitsklima geschaffen haben, indem ich mich sehr wohl gefühlt habe.

Erklärung gem. § 3 Abs. 1, Punkt 10 der Promotionsordnung:

Ich versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbstständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit – einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen –, die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Fall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie abgesehen von den unten angegebenen Teilpublikationen noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde.

Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Herrn Prof. Dr. H. H. Coenen betreut worden.

Köln, im September 2003

Teilpublikationen

Konferenzbeitrag:

Fifteenth International Symposium on Radiopharmaceutical Chemistry, Sydney, Australia.

Breidenbach, M.; Holschbach, M.H.; Bier, D.; Sihver, W.; Olsson, R.A.; Coenen, H.H. Design, Synthesis and Radiolabelling of 2,6-Diaminopurine Derivatives as potential Adenosine-A_{2A} Receptor Ligands for PET. *J. Label. Compds. Radiopharm.* **2003**, 46, S153.

Lebenslauf

Marc Breidenbach

Geisselstr. 45

50823 Köln

Tel.

0221-5000650

e-mail:

m.breidenbach@fz-juelich.de

geboren am 24. Januar 1975 in Mayen

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung

1981 – 1985

Grundschule Mayen-Kürrenberg

1985 – 1994

Megina-Gymnasium in Mayen

Abschluss: allgemeine Hochschulreife

Studium

10/1994 – 08/2000

Studium der Chemie an der Universität zu Köln

04/1997

Diplom-Chemiker-Vorprüfung (Note: sehr gut)

03/1998 – 02/1999

Studentische Hilfskraft am Institut für Anorganische Chemie der Universität zu Köln bei Prof. Dr. F. Wasgestian.

10/1999

Mündliche Diplomprüfungen

Diplomarbeit

11/1999 – 08/2000

Diplomarbeit am Institut für Nuklearchemie der Universität zu Köln mit dem Thema: „ ^{18}F Fluor-markierte Hexosen als prothetische Gruppen“, durchgeführt am Institut für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH unter Anleitung von Prof. Dr. H.H. Coenen.

08/2000

Diplom-Chemiker-Hauptprüfung (Note: sehr gut)

Promotion

10/2000 – 09/2003

Promotionsarbeit am Institut für Nuklearchemie der Universität zu Köln mit dem Thema: „Trägerarm markierte 6-Aminopurinderivate als potentielle Adenosin $\text{A}_{2\text{A}}$ Rezeptor-liganden für die Positronen-Emissions-Tomographie“, durchgeführt am Institut für Nuklearchemie der Forschungszentrum Jülich GmbH unter Anleitung von Prof. Dr. H.H. Coenen.

Köln, im September 2003